



**INSTITUTO POLITÉCNICO DE BEJA**

**Escola Superior Agrária**

**Mestrado em Agronomia**



**Efeito do sistema de cultivo de olivais do Baixo  
Alentejo nas comunidades de formigas**

**Cláudia da Silva Gonçalves**

**Beja, 2013**



**INSTITUTO POLITÉCNICO DE BEJA**

**Escola Superior Agrária**

**Mestrado em Agronomia**



## **Efeito do sistema de cultivo de olivais do Baixo Alentejo nas comunidades de formigas**

**Dissertação de mestrado apresentado na Escola Superior Agrária do  
Instituto Politécnico de Beja**

**Elaborado por:**

**Cláudia da Silva Gonçalves**

**Orientado por:**

**Doutora Maria Isabel Fernandes Cardoso Patanita**

**Doutor Xavier Espadaler**

**Apoio financeiro do PRODEP III no âmbito do III  
Quadro Comunitário de Apoio.**



**UNIÃO EUROPEIA**  
Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional  
**FCT** Fundação para a Ciência e a Tecnologia  
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E ENSINO SUPERIOR

**Beja, 2013**

*Este trabalho foi expressamente elaborado  
como dissertação original para efeito de  
obtenção do grau de mestre em agronomia.*

*As opiniões expressas neste trabalho são da  
exclusiva responsabilidade do autor.*

## Agradecimentos

Pela disponibilidade e apoio, que sempre me prestou, gostaria de agradecer à minha orientadora Doutora Maria Isabel Patanita.

Ao meu co-orientador Professor Doutor Xavier Espadaler, pela hospitalidade prestada em Barcelona, pela atenção e dedicação, ensinamentos, e principalmente pela amizade que criamos. Consigo aprendi a tratar as formigas por tu. Obrigada!

Ao Professor João Portugal, pela ajuda, força e encorajamento aquando da nossa ida de Erasmus para Barcelona, e durante todo o decorrer do mestrado.

Um agradecimento à Doutora Margarida Pereira e ao Doutor Luís Mendonça de Carvalho, pela preocupação, dedicação e compreensão que sempre tiveram comigo, desde o tempo da licenciatura até agora.

À amiga e madrinha Paula Nozes, sempre presente, sempre preocupada, com toda a sua dedicação, paciência, e encorajando. Obrigada pelo amor que sempre me dedicou.

A Ana Margarida e ao Floro, pela amizade e pelas conversas descontraídas na pausa para café, com bolinhos à mistura.

À Andreína, por tudo! Paciência, companhia, amizade, amor...que dedicou ao longo destes dois anos, nas viagens para o campo e no tempo passo em laboratório. Sem ti, não era a mesma coisa. E claro, pela aventura passada a 'três' em Barcelona.

Ao António Silva, que durante uns meses fez parte desta aventura que é trabalhar em formigas. És um amigo para a vida, adorei trabalhar contigo...aquele laboratório contigo, tinha outro encanto.

Aos meus amigos e família, por se interessarem pelo meu trabalho e se mostrarem sempre disponíveis para me ouvir a falar de formigas.

Ao meu avô, sempre amoroso e prestável. Quando precisava de algum material para o trabalho de campo, ele tudo arranja e tudo faz, um verdadeiro 'engenheiro'.

Ao meu amor, Ruben Mateus, 'simplesmente porque sim'! Pela dedicação, paciência, por ter sempre 'aquela' palavra de conforto, apesar de neste momento estar ausente

fisicamente, és o que mais me ajuda, com a sua amizade e amor, e quem me consegue arrancar um sorriso quando menos se espera. À espera do nosso príncipe Vicente somos felizes. Obrigada!

Por fim, e sempre os mais importantes, aos meus pais, Mariana Gonçalves e António Gonçalves, e ao grande amor da minha vida, o meu irmão Luís Paulo Gonçalves, por acreditarem em mim e me apoiarem incondicional, sem o vosso amor nada seria possível.

## **Local de Realização**

Este estágio realizou-se em dois locais distintos. Parte dele na Escola Superior Agrária - Campus do Instituto Politécnico de Beja, mais concretamente no Laboratório de Protecção de Plantas, pertencente ao Departamento de Biociências, a outra parte na Universidade Autónoma de Barcelona, através do Programa Estágios Erasmus, devido ao facto de esse ser o local de trabalho do co-orientador.

O trabalho de campo decorreu em oito parcelas de olival, de maio de 2011 a dezembro de 2012, monitorizadas no âmbito do projecto “PTDC/AGR-PRO/111123/2009: A utilização de indicadores biológicos como ferramentas para avaliar o impacte de práticas agrícolas na sustentabilidade do olival”, realizado pelo Instituto Politécnico de Beja, em parceria com o Instituto Politécnico de Bragança e a Universidade de Coimbra.

## Resumo

Estudou-se o efeito do sistema de cultivo em oito olivais do Baixo Alentejo nas comunidades de formigas, dos quais quatro são biológicos (dois de regadio e dois de sequeiro) e os outros quatro não-biológicos (dois intensivos e dois superintensivos). As amostragens de formicídeos ocorreram entre maio de 2011 e dezembro de 2012, com recurso a dois métodos de amostragem distintos, técnica das pancadas e armadilhas de queda.

Foram capturados no total, 42864 indivíduos, dos quais 20564 estavam presentes nos olivais biológicos regados, 9618 nos olivais biológicos de sequeiro, 8441 nos intensivos e 4241 nos superintensivo. Esses indivíduos pertencem a 16 géneros e 34 espécies: *Aphaenogaster* (2), *Camponotus* (6), *Cataglyphis* (3), *Crematogaster* (3), *Formica* (2), *Goniomma* (1), *Hypoponera* (1), *Lasius* (2), *Messor* (2), *Pheidole* (1), *Plagiolepis* (2), *Tapinoma* (3), *Tetramorium* (3) e *Temnothorax* (1). Sendo a espécie *Crematogaster scutellaris* (23%) a mais abundantes na copa e *Pheidole pallidula* (31%) a que apresentou maior abundância relativamente ao solo.

Foram encontradas duas novas espécies *Strongylognathus caeciliae* Forel, 1897 e *Temnothorax tyndalei* (Forel, 1909) citadas pela primeira vez em Portugal Continental, o que fez com que a check-list de formigas em Portugal continental alcance-se as 126 espécies.

Seis novos géneros, três tribos e uma subfamília são adicionados à lista de hospedeiros conhecidos para o enigmático fungo endoparasita *Myrmicinosporidium* Hölldobler. Sendo também Portugal um país novo para *Myrmicinosporidium*, esta descoberta é uma evidência de que o fungo filogeneticamente tem um amplo espectro de acolhimento e, portanto, um microparasita generalista.

**Palavras-chave:** Inventário, Formicidae, *Myrmicinosporidium*, *Strongylognathus caeciliae*, *Temnothorax tyndalei*.



## Abstract

A study was carried to verify the effect of different management schemes in eight olive groves of Baixo Alentejo, Portugal in the communities of ants, of which four are organic (two irrigated and two non-irrigated) and four non-organic (two low density and two intensive high density). The sampling of the ants took place between May 2011 and December 2012, using two different sampling methods, beating and pitfall traps

A total of 42864 individuals were captured, of whom 20564 were present in the irrigated organic olive groves, 9618 in the non-irrigated organic olive groves, 8441 in the high density and 4241 in intensive high density. These individuals belong to 16 genera and 34 species: *Aphaenogaster* (2), *Camponotus* (6), *Cataglyphis* (3), *Crematogaster* (3), *Formica* (2), *Goniomma* (1) *Hypoponera* (1), *Lasius* (2), *Messor* (2), *Pheidole* (1), *Plagiolepis* (2), *Tapinoma* (3), *Tetramorium* (3), *Temnothorax* (1). *Crematogaster scutellaris* (23%) was the most abundant species in the canopy and *Pheidole pallidula* (31%) presented the highest abundance for the soil.

Two new species were found, *Strongylognathus caeciliae* Forel, 1897 and *Temnothorax tyndalei* (Forel, 1909) cited for the first time in Portugal, which made the check-list of ants in continental Portugal reach up to 126 species.

Six new genera, three tribes and a subfamily were added to the list of known hosts for the enigmatic endoparasitic fungus *Myrmicinosporidium* Hölldobler. Portugal is also a new country for *Myrmicinosporidium*, this discovery is evidence that the fungus has a phylogenetically broad range of host and therefore a microparasite generalist.

**Key words:** Inventory, Formicidae, *Myrmicinosporidium*, *Strongylognathus caeciliae*, *Temnothorax tyndalei*.

## Nota Prévia

Parte dos resultados presentes neste trabalho foram apresentados nas seguintes comunicações (posters):

Gonçalves, C., Patanita, M. I., Espadaler, X., Santos, S.A.P. (2012). Diversidade de formigas segundo um gradiente de intensidade cultural no olival do Alentejo. XV Congresso Ibérico de Entomologia (1-6 Setembro 2012). Angra do Heroísmo, Ilha Terceira – Açores. Portugal.

Santos, S.A.P., Patanita, M.I. & Gonçalves, C. (2012). Ant communities in organic rain-fed and irrigated olive groves in the Southeast of Alentejo. XVI International Colloquium on Soil Zoology (6 - 10 August). Coimbra, Portugal.

Patanita, M.I, Gonçalves, C., Roig, X., Pereira, J.A y Santos, S.A.P. Aplicación de la nueva propuesta de grupos funcionales de hormigas para Península Ibérica y Baleares en olivares de Alentejo (Portugal). VII Congresso Ibérico de Mirmecologia "TAXOMARA". (4 - 7 Julio 2012). Tres Cantos, Madrid, Espanha.

# Índice Geral

Agradecimentos .....	I
Local de Realização .....	II
Resumo.....	III
Abstract.....	IV
Nota Prévia .....	V
Índice Geral.....	VI
Índice Figuras.....	IX
Índice Quadros.....	XII
1. Introdução .....	1
2. Formicídeos como bioindicadores e indicadores agro-ambientais.....	3
2.1 Bioindicadores .....	3
2.2 Indicadores agro-ambientais .....	4
3. Diversidade agrícola e factores relacionados .....	5
3.1 Diversidade agrícola .....	5
3.2 Mirmecofauna, paisagem e práticas culturais.....	5
3.3 Mirmecofauna como indicadora do sistema de cultivo .....	6
4. Formigas da Península Ibérica.....	8
4.1 Distribuição .....	8
4.2 Biologia .....	8
4.3 Sistemática .....	8
4.4 Morfologia .....	9
4.5 Grupos funcionais .....	11
5. Material e métodos.....	13
5.1 Áreas de estudo .....	13
5.1.1 Caracterização dos olivais .....	13
5.2 Técnicas de amostragem .....	16

5.2.1	Técnica das pancadas .....	16
5.2.2	Armadilhas de queda (pitfall).....	16
5.3	Identificação de espécimes .....	17
5.4	Análise estatística .....	18
5.4.1	Esforço de amostragem .....	18
5.4.2	Abundância .....	19
5.4.3	Riqueza específica.....	20
5.4.4	Composição .....	20
5.4.5	Índices de diversidade .....	20
5.4.6	Grupos funcionais .....	20
6.	Resultados .....	21
6.1	Comunidade de formicídeos nos olivais estudados .....	21
6.2	Esforço de amostragem .....	23
6.3	Abundância .....	26
6.4	Riqueza específica.....	31
6.5	Composição .....	36
6.6	Índices de diversidade.....	40
6.7	Grupos funcionais .....	40
7.	Discussão .....	43
8.	Substantial, and significant, expansion of ant hosts range for - <i>Myrmicinosporidium</i> Hölldobler, 1933 (Fungi).....	46
8.1	Introduction .....	46
8.2	Materials and methods .....	47
8.3	Results .....	48
8.4	Discussion.....	49
8.5	References.....	52
9.	Comparação da comunidade de formigas entre olivais de diferentes regiões da Península Ibérica .....	55

10. <i>Primeiros registos das espécies Strongylognathus caeciliae</i> Forel, 1897 e <i>Temnothorax tyndalei</i> (Forel, 1909) (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) em Portugal Continental.....	59
10.1 Introdução.....	60
10.2 Material e métodos.....	60
10.3 Resultados.....	60
10.4 Bibliografia.....	61
11. Comentários e sugestões.....	63
12. Conclusões e Considerações Finais.....	65
13. Referências bibliográficas.....	66

## Índice Figuras

<b>Figura 1</b> – Esquema ilustrativo de alguns aspectos morfológicos das formigas: perfil de <i>Linepithema humile</i> (Mayr), onde se pode observar, An – antena; Ca – cabeça; Me – mesossoma; Pe – Pecíolo; Ga – gáster; Pr – pronoto; Ms – mesonoto; Mt – metanoto; Pp – propodeo (adaptado de Moore e Koehler, 1980). ....	9
<b>Figura 2</b> – A) perfil de exemplar do género <i>Tapinoma</i> , observando-se um pecíolo escondido sob o gáster; B) perfil de exemplar do género <i>Camponotus</i> , onde se observa um só nódulo, o pecíolo; C) perfil de indivíduo de <i>Myrmicinae</i> , evidenciando o pecíolo e pós-pecíolo (dois nódulos), característico desta subfamília (adaptado de Moore e Koehler, 1980).....	10
<b>Figura 3</b> – A) Esquema ilustrativo da constituição da cabeça, evidenciando, Oc – ocelo; Sf – sulco frontal; Cf – carina frontal; Tf – triângulo frontal; Cl – clípeo; Ma – mandíbula; Es – escapo; Fu – funículo (adaptado de Collingwood & Prince, 1998); B) Esquema ilustrativo da constituição da antena, onde se pode observar a massa antenal característica de algumas espécies (adaptado de Moore e Koehler, 1980). ....	10
<b>Figura 4</b> – Olivais de estudo: A – Biológico Serpa; B – Biológico Póvoa; C – Biológico Moura 1; D - Biológico Moura 2; E - Intensivo Neves; F - Intensivo Serpa; G - Superintensivo Serpa; H - Superintensivo Moura (originais da autora). ....	14
<b>Figura 5</b> – Esquema de amostragem relativo à técnica das pancadas. ....	16
<b>Figura 6</b> – Esquema de amostragem relativo às armadilhas de queda. ....	16
<b>Figura 7</b> – Identificação dos espécimes, à lupa binocular (originais da autora). ....	17
<b>Figura 8</b> – Curvas de acumulação de espécies, no solo por olival. ....	23
<b>Figura 9</b> – Curvas de acumulação de espécies, no solo por sistema de cultivo. ....	24
<b>Figura 10</b> – Relação entre abundância e riqueza. Foram incluídos todos os dados (anos, sistemas de cultivo e localidades). Logrichness (=logriqueza) = $0,2013 + 0,314 \cdot \text{Logabundance}$ (=logabundância); $r = 0,8079$ ; $p = 0,0000$ ; $r^2 = 0,6527$ . ....	24
<b>Figura 11</b> – Efeito do sistema de cultivo sobre a abundância (média) de formigas em armadilhas de queda ( $n=8$ pitfall x 2 localizações x 2 anos x 2 olivais/sistemas de cultivo). As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95. ....	27

<b>Figura 12</b> – Abundância de formigas de acordo com a interação entre o sistema de cultivo (Bio1; Bio2; Intensivo; Superintensivo) e a localização (linha, entrelinha) em pitfall. As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.....	27
<b>Figura 13</b> – Efeito da densidade de árvores sobre a abundância de formigas em armadilhas de queda. Três níveis de densidade: b (baixa); m (médio); a (alta). As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.....	28
<b>Figura 14</b> – Efeito do sistema de cultivo sobre a abundância (média) de formigas em copas. As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95. ....	29
<b>Figura 15</b> – Efeito da densidade de árvores sobre a abundância de formigas em copas. Três níveis de densidade: b (baixa)=s; m (médio)=m; a (alta)=h. As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.....	30
<b>Figura 16</b> – Efeito do sistema de cultivo sobre a riqueza (média) de formigas em armadilhas de queda (n=8 pitfall x 2 localizações x 2 anos x 2 olivais/sistemas de cultivo). As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.....	31
<b>Figura 17</b> – Riqueza de espécies de formigas de acordo com a interação entre o sistema de cultivo (biológico, intensivo e superintensivo) e a localização (linha, entrelinha) em pitfall. As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95. ....	32
<b>Figura 18</b> – Efeito da densidade de árvores sobre a riqueza de formigas em pitfall. Três níveis de densidade: b (baixa); m (médio); a (alta). As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.....	33
<b>Figura 19</b> – Efeito do sistema de cultivo sobre a riqueza (média) de formigas em copas. As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95. ....	34
<b>Figura 20</b> – Efeito da densidade de árvores sobre a riqueza de formigas em copas. Três níveis de densidade: b (baixa); m (médio); a (alta). As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.....	35
<b>Figura 21</b> – NMDS da comunidade de formigas amostradas nas pitfall (16 pitfall/olival) dos oito olivais (x2 anos/olival) agrupados segundo o sistema de cultivo (4 tipos) e a densidade (3 níveis: baixa (b), media (m) e alta (a))......	37
<b>Figura 22</b> – NMDS da comunidade de formigas amostradas nas copas (20 pitfall/olival) dos oito olivais (x2 anos/olival) agrupados segundo o sistema de cultivo (4 tipos) e a densidade (3 níveis: baixa (b), media (m) e alta (a)). ....	38

<b>Figura 23</b> – NMDS da comunidade de formigas amostradas nas pitfall (16 pitfall/olival) e nas copas (20 pitfall/olival) dos oito olivais (x2 anos/olival) agrupados segundo o sistema de cultivo (4 tipos) e a densidade (3 níveis: baixa (b), media (m) e alta (a)). ...	39
<b>Figura 24</b> – Indicadores do estado de perturbação de acordo com os grupos funcionais, em pitfall (A – Biológico Serpa; B – Biológico Póvoa; C – Biológico Moura 1; D – Biológico Moura 2; E – Intensivo Neves; F – Intensivo Serpa; G – Superintensivo Serpa; H – Superintensivo Moura). ....	41
<b>Figura 25</b> – Indicadores do estado de perturbação de acordo com os grupos funcionais, em copas (A – Biológico Serpa; B – Biológico Póvoa; C – Biológico Moura 1; D – Biológico Moura 2; E – Intensivo Neves; F – Intensivo Serpa; G – Superintensivo Serpa; H – Superintensivo Moura). ....	42
<b>Figura 26</b> – Mapa da Península Ibérica com as quatro regiões de estudo. ....	55
<b>Figura 27</b> – Representação NMDS das matrizes de similitudes (índice de Bray-Curtis com presença/ausência, que equivale ao índice de Sørensen) entre as formigas de 22 olivais de Portugal. ....	57
<b>Figura 28</b> – Representação NMDS das matrizes de similitudes (índice de Bray-Curtis com presença/ausência, que equivale ao índice de Sørensen) entre as formigas de 22 olivais de Portugal e 3 de Espanha. ....	58



## Índice Quadros

<b>Quadro 1</b> – Caracterização dos olivais em estudo.....	15
<b>Quadro 2</b> – Espécies de formigas e respectivo número de exemplares, identificados nos olivais onde foram recolhidos, associado o grupo funcional a que cada uma pertence .....	21
<b>Quadro 3</b> – Espécies observadas e estimadas nos oito olivais. Estão indicados os estimadores usados e o grau em que se pode considerar o inventário específico como completo .....	25
<b>Quadro 4</b> – Média e desvio padrão de índices de diversidade de várias comunidades de formigas nos olivais em estudo. Valores de índices de copa e pitfall utilizando diferentes estimadores de diversidade para cada olival. Dois olivais (repetições) para cada sistema de cultivo .....	40

## **1. Introdução**

A oliveira (*Olea europaea* L.) constitui um elemento característico da paisagem Mediterrânica. Não tendo uma origem muito definida, esta poderá ser originária de qualquer parte da Bacia Mediterrânica Oriental ou da Ásia Menor (Fernández e Moreno, 1999).

À semelhança de outros países do Mediterrâneo, também em Portugal, assistimos a um interesse pela intensificação desta cultura, passando, entre outros factores, pela adopção da rega. No entanto, Portugal, assim como outras regiões do sul da Europa, apresenta-se vulnerável às alterações climáticas, nomeadamente à seca e à desertificação (Santos *et al.*, 2002).

As comunidades de invertebrados podem registar o impacto das práticas agrícolas, a curto prazo, além de, a longo prazo poderem indicar mudanças nos ecossistemas (Parmesan *et al.*, 1999; Bisevac e Majer, 1999; York, 2000).

As formigas são consideradas peculiarmente úteis para a monitorização devido a várias razões. Segundo Majer (1983), Andersen (1990) e Hoffmann *et al.* (2000), estas são abundantes e ubíquas tanto em habitats intactos como em áreas que sofreram perturbações, sendo a sua amostragem relativamente fácil, sem necessidade de conhecimentos especializados muito profundos (Greenslade e Greenslade, 1984; Fisher, 1999; Agosti e Alonso, 2000) e provando serem seres sensíveis e responderem rapidamente a variações ambientais (Campbell e Tanton, 1981; Majer, 1983; Andersen, 1990).

O objectivo geral deste trabalho é estudar o efeito de diferentes sistemas de cultivo em olivais na região do Baixo Alentejo nas comunidades de formigas, através do estudo de algumas variáveis, como a abundância, a riqueza e a composição, tendo em conta diferentes metodologias.

Contudo, pretendemos também identificar e catalogar as espécies de formigas amostradas nos olivais seleccionados e tentar perceber em que medida estas podem ser bioindicadores dos diferentes sistemas de cultivo.

Esta dissertação, para além do objectivo inicialmente proposto, inclui ainda três capítulos, um deles baseia-se na comparação de dados publicados sobre formigas em oliveiras da Península Ibérica, sendo que aparentemente só se efectuaram estudos em quatro regiões (Baixo Alentejo, Alto Alentejo, Trás-os-Montes, Granada), tentaremos perceber se existem diferenças nas comunidades de formigas aquando dessa comparação; os outros dois capítulos apresentam-se na forma de artigo: o primeiro, já publicado pela *Insectes Sociaux*, em 2012 e intitulado “Substantial, and significant, expansion of ant hosts range for *Myrmicinosporidium* Hölldobler, 1933 (Fungi)” e o segundo, submetido a publicação no *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, em 2013, intitulado “Primeiros registos das espécies *Strongylognathus caeciliae* Forel, 1897 e *Temn thorax tyndalei* (Forel, 1909) (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) em Portugal Continental”.

## **2. Formicídeos como bioindicadores e indicadores agro-ambientais**

### **2.1 Bioindicadores**

Os organismos bioindicadores são espécies vivas (animais ou vegetais) cujas funções vitais estão estreitamente relacionadas com certos factores ambientais e que reagem de forma conhecida. Esta reacção permite caracterizar a qualidade do meio ambiente, como por exemplo a detecção da existência de substâncias contaminantes no meio natural e/ou avaliar a gravidade da sua presença (Paolletti e Bressan, 1996; Van Straalen, 1998).

Um bioindicador deve reunir duas condições: em primeiro lugar o organismo deve ser sensível às alterações que se pretendem monitorizar no ecossistema; em segundo lugar, a resposta do organismo deve ser calibrada para diferentes níveis de alteração previamente conhecidos, para posteriormente ser possível fazer-se uma conexão entre as respostas biológicas e as correspondentes alterações ambientais (Peck *et al.*, 1998).

Foi no começo do século XX que o uso da bioindicação passou a ser considerado uma metodologia mais formal. Assim, os botânicos começaram a utilizar a presença de diferentes tipos de plantas e associações para definir diferentes tipos de solo, ainda que o conceito de espécies indicadoras fosse aplicado pela primeira vez em sistemas aquáticos (Wihlm e Dorris, 1968), e posteriormente em sistemas terrestres (McGeoch, 1998), convertendo-se numa nova ferramenta para avaliar as alterações ambientais, como contaminação, excessivo uso do solo, inapropriado uso da água, etc. (Paoletti, 1999).

Recentemente tem aumentado a atenção focada em invertebrados terrestres (Disney, 1986; Rosenberg *et al.*, 1986; Kremen, 1992; Williams, 1993), uma vez que existe cada vez mais interesse na identificação de bioindicadores para a utilização na monitorização e em programas de avaliação do estado do ambiente (Noss, 1990; Spellerberg, 1993; McKenzie *et al.*, 1995).

## **2.2 Indicadores agro-ambientais**

A utilização e desenvolvimento de bioindicadores agro-ambientais são fundamentais para uma boa estratégia de desenvolvimento sustentável e que deve ser integrada na CAP (Common Agricultural Policy – Política Agrícola Comum) segundo a comunicação da Comissão das Comunidades Europeias ao Concelho e ao Parlamento Europeu (2006).

Uma vez que a preocupação com as questões ambientais tem vindo a aumentar, foi necessário dispor de instrumentos que permitam avaliar e acompanhar o desempenho ambiental das actividades humanas, principalmente após a introdução do conceito de sustentabilidade que fez a ligação entre o desenvolvimento e a protecção do ambiente (GPP, 2010).

O desenvolvimento de indicadores agro-ambientais (IAA) vem sendo feito há vários anos a nível internacional e nacional, embora seja relativamente recente quando comparada com o desenvolvimento de indicadores económicos (GPP, 2010).

Tendo em conta as complexas relações que se estabelecem entre a agricultura e o ambiente, uma vez que se trata de uma actividade baseada em processos biológicos e na utilização de recursos naturais, o estabelecimento de indicadores que traduzam essas relações constitui um exercício também ele complexo (GPP, 2010).

De acordo com a metodologia definida pela OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico), os IAA devem respeitar os seguintes requisitos: relevância em termos das políticas: focar as questões ambientais mais importantes; fiabilidade analítica: assentar numa fundamentação científica fiável; mensurabilidade: ser exequível em termos de disponibilidade de dados actual ou programada; facilidade de interpretação: comunicar informação essencial de uma forma clara e facilmente compreensível (GPP, 2010).

### **3. Diversidade agrícola e factores relacionados**

#### **3.1 Diversidade agrícola**

Entende-se como diversidade agrícola, a diversidade de plantas e animais existentes numa exploração ou numa região, sendo importante que a produção de cada variedade esteja associada a um conhecimento da planta ou do animal, das condições que cada necessita, de técnicas associadas à sua produção e de usos que pode ter (Armando, 2002).

A agrobiodiversidade é um aspecto vital da biodiversidade global e inclui as variedades cultivadas mas também insectos, microrganismos, espécies florestais e animais de pasto, espécies que contribuem para o ecossistema agrícola. Inclui também a cultura e os conhecimentos locais (FAO, 1999).

#### **3.2 Mirmecofauna, paisagem e práticas culturais**

A maioria dos estudos realizados sobre a entomofauna do olival incide sobre espécies fitófagas que constituem pragas, sendo muito reduzida a investigação sobre a presença e importância ecológica de outros artrópodes (Cavalloro e Croveti, 1984).

Em geral, a informação existente sobre insectos está relacionada com espécies que são pragas agrícolas ou que são características de determinada região, embora nenhuma delas seja representativa da diversidade biológica dos insectos (Hook, 1997).

Este facto pode estar relacionado com a extrema diversidade de artrópodes e com o seu tamanho maioritariamente pequeno, estando associado ainda a falta de conhecimento dos seus habitats e das suas características ecológicas (Pik *et al.*, 1999).

Em Portugal, os formicídeos são uma das famílias mais numerosas de artrópodes associadas ao olival, onde estão representadas mais de vinte espécies. O seu papel associado a esta cultura não está completamente esclarecido, embora seja relevante, dada a sua abundância e hábitos alimentares. Estes insectos podem contribuir, enquanto predadores, para a limitação natural das pragas da cultura, mas podem também interferir negativamente com a actuação de outros auxiliares. Acresce que

algumas espécies estabelecem relações de cooperação com hemípteros, alimentando-se de meladas produzidas por estes insectos e protegendo-os dos seus inimigos naturais. Por outro lado, certas espécies desempenham papel importante na melhoria das propriedades físicas do solo e no ciclo de nutrientes (Pereira *et al.*, 2006).

Segundo Rei (2006) a paisagem está baseada em características naturais que são evolutivas e abióticas, incluindo o clima, relevo, disponibilidade hídrica, fertilidade do solo, rocha-mãe, glaciações, vulcanismo, assim como a intervenção humana mediante a agricultura, silvicultura, políticas rurais, pressões económicas e outras influências culturais.

### **3.3 Mirmecofauna como indicadora do sistema de cultivo**

Segundo Haney (1988) as formigas estão presentes em quase todos os ecossistemas terrestres. Embora a literatura seja bastante vasta, mas a maior parte das publicações tratam da sua biologia, fisiologia, comportamento ou ecologia em laboratório ou em ambientes não agrícolas. Poucos são os trabalhos que falam das formigas associadas a culturas. Contudo, estes insectos podem desempenhar papel importante no êxito do sistema de produção.

Numa análise recente de vários grupos de insectos como potenciais bioindicadores, as formigas apresentaram-se como os insectos mais importantes (Brown Jr, 1997).

Na Austrália, as formigas têm sido muito utilizadas como bioindicadores (Majer, 1983; Greenslade e Greenslade, 1984; Andersen, 1997a) de perturbações, como é o caso de incêndios, pastoreio ou de explorações florestais (Neumann, 1992; York, 1994; Vanderwoude *et al.*, 1997).

Conforme Majer (1983) e Andersen (1997b), estudos realizados demonstram que alterações nas comunidades de formigas causadas por perturbações reflectem alterações em muitos outros grupos de invertebrados.

As formigas são consideradas excelentes bioindicadores agro-ambientais, por um lado porque são bem conhecidas a nível sistemático, pelo menos até ao género (Bolton 1994, 1995; Bolton *et al.*, 2007). Contudo, também são altamente diversificadas e dominantes (relativamente a abundância relativa e biomassa) em muitos habitats e

seu papel ecológico nos ecossistemas é reconhecido, assim como, a sua sensibilidade às mudanças ambientais (Andersen 1997, 2000, Andersen e Majer, 2004). Devido aos seus hábitos de nidificação permitem ser amostrados ao longo do tempo, sendo essa amostragem geralmente fácil e de baixo custo em termos de tempo e recursos (Agosti *et al.*, 2000).



## **4. Formigas da Península Ibérica**

### **4.1 Distribuição**

Actualmente, o mundo das formigas ibéricas está a passar por um momento de extrema importância, uma vez que numerosos especialistas têm vindo a investigar ao longo dos últimos 30 anos diversos aspectos taxonómicos, etológicos e ecológicos que têm ampliado expressivamente o conhecimento da fauna peninsular expresso em inúmeros artigos e dissertações (Gómez e Espadaler, 2007).

Existem mais de 12 000 espécies e 200 géneros de formigas em todo o mundo (Gómez e Espadaler, 2007).

Contudo, na Península Ibérica, existem cerca de 270 espécies, distribuídas por mais de 40 géneros diferentes e estes em níveis taxonómicos distintos, geralmente em tribos, subfamílias e, finalmente, a família Formicidae (Gómez e Espadaler, 2007).

### **4.2 Biologia**

São insectos sociais que vivem em comunidades de várias dimensões, desde alguns indivíduos, a centenas de milhares, dependendo do comportamento das espécies, uma vez que também apresentam uma muito variada biologia (Collingwood e Prince 1998).

As colónias são permanentes e a maioria apresenta castas reprodutoras, como rainhas e machos, e castas não reprodutoras, o caso das obreiras. Podem diferenciar-se em subcastas, de acordo com a dimensão, ou funções específicas, como é o exemplo dos soldados (Collingwood e Prince, 1998).

### **4.3 Sistemática**

Os formicídeos pertencem a ordem Hymenoptera e estão agrupados numa única família, Formicidae. Em Portugal, estão representadas seis subfamílias: Dolichoderinae, Formicinae, Leptanillinae, Myrmicinae, Ponerinae e Amblyoponinae (Boeiro *et al.* 2002, 2009; Collingwood e Prince, 1998).

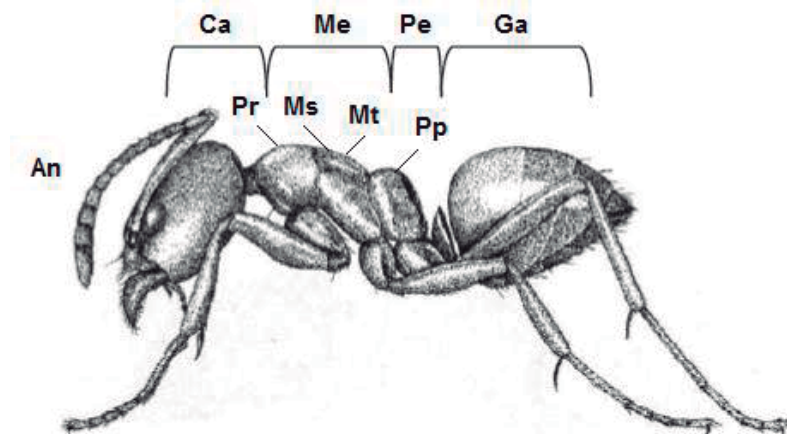
Segundo Roig e Espadaler (2010), os principais géneros encontrados na Península Ibérica são: *Aphaenogaster*, *Camponotus*, *Cataglyphis*, *Crematogaster*, *Formica*,

*Goniomma, Lasius, Messor, Pheidole, Plagiolepis, Proformica, Solenopsis, Tapinoma, Tetramorium.*

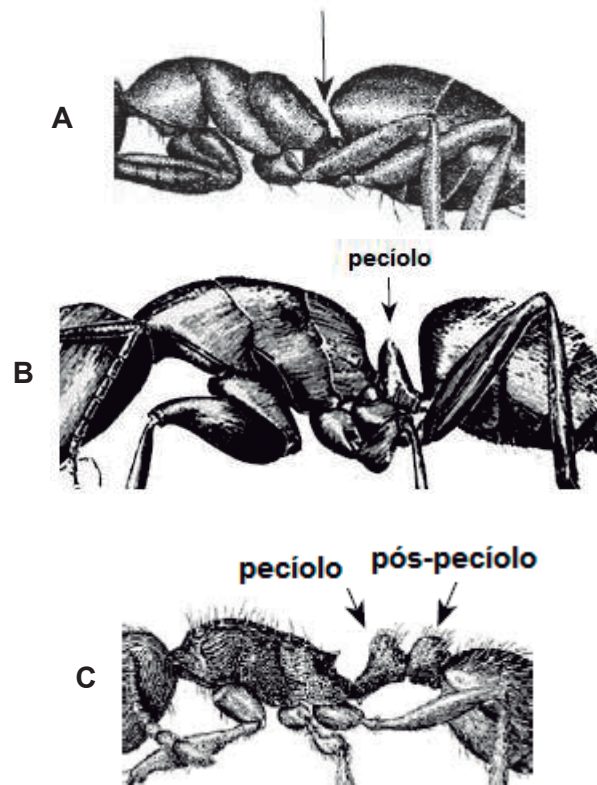
#### 4.4 Morfologia

Como todos os insectos, as formigas possuem o corpo dividido em três unidades funcionais (cabeça, tórax e abdómen), três pares de patas e dois pares de asas, embora a maior parte não apresente asas, apenas os indivíduos sexuais (Gómez e Espadaler 2007).

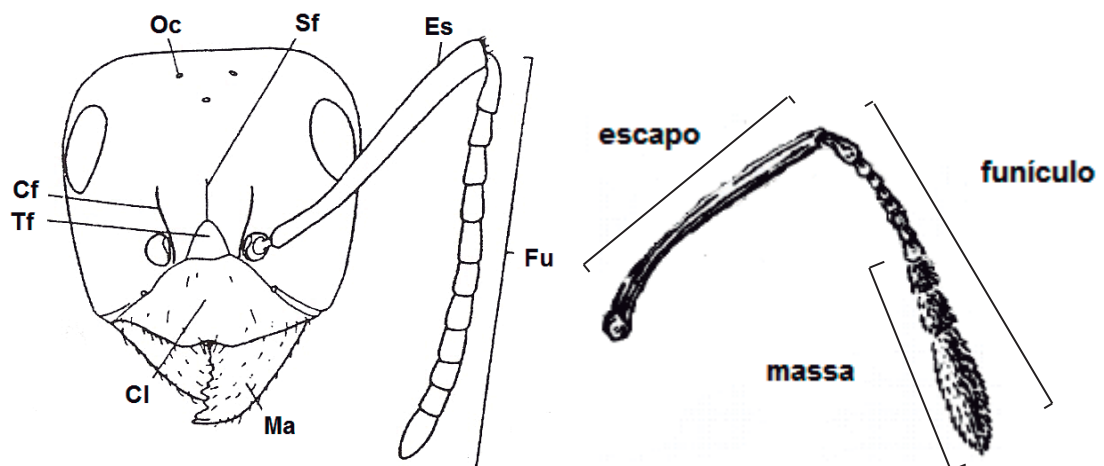
Contudo, diferem de outros insectos em alguns aspectos. Exemplo disso é o primeiro segmento abdominal, chamado de propodeo, uma vez que se funde com o tórax, formando um tórax aparente, tendo o nome de mesossoma, e possuírem uma constrição, o pecíolo, entre o propodeo e o gáster, que pode apresentar um ou dois nódulos distintos (Figura 1). Neste ultimo caso, o segundo nódulo denomina-se pós-pecíolo. O pecíolo pode encontrar-se erecto, reduzido ou escondido pelo gáster ou mais ou menos arredondado (Figura 2). Possuem antenas geniculadas, com artículo basal (escapo) alongado. Apresentam em média 4-12 artículos nas fêmeas e 9-13 nos machos (Gómez e Espadaler 2007). Os últimos dois, três, quatro ou cinco artículos podem constituir uma massa, característica de algumas espécies (Figura 3).



**Figura 1** – Esquema ilustrativo de alguns aspectos morfológicos das formigas: perfil de *Linepithema humile* (Mayr), onde se pode observar, An – antena; Ca – cabeça; Me – mesossoma; Pe – Pecíolo; Ga – gáster; Pr – pronoto; Ms – mesonoto; Mt – metanoto; Pp – propodeo (adaptado de Moore e Koehler, 1980).



**Figura 2 – A)** perfil de exemplar do género *Tapinoma*, observando-se um pecíolo escondido sob o gáster; **B)** perfil de exemplar do género *Camponotus*, onde se observa um só nóculo, o pecíolo; **C)** perfil de indivíduo de *Myrmicinae*, evidenciando o pecíolo e pós-pecíolo (dois nóculos), característico desta subfamília (adaptado de Moore e Koehler, 1980).











**Figura 3 - A)** Esquema ilustrativo da constituição da cabeça, evidenciando, Oc – ocelo; Sf – sulco frontal; Cf – carina frontal; Tf – triângulo frontal; Cl – clípeo; Ma – mandíbula; Es – escapo; Fu – funículo (adaptado de Collingwood & Prince, 1998); **B)** Esquema ilustrativo da constituição da antena, onde se pode observar a massa antenal característica de algumas espécies (adaptado de Moore e Koehler, 1980).

## **4.5 Grupos funcionais**



Devido à sua biomassa e ao seu papel ecológico, as formigas são componentes importantes de muitos ecossistemas, cumprindo os cinco requisitos para ser um bom bioindicador: vasta distribuição, abundância e diversidade; importância funcional nos ecossistemas; sensíveis a alterações ambientais; facilidade de classificação de amostragem, e identificação; permitem, portanto, a interpretação das alterações observadas.

Segundo Greenslade (1978) e Andersen (1995) para facilitar esta interpretação, nas últimas duas décadas tem sido proposta e aplicada a sua classificação em grupos funcionais, de forma a consolidar o papel destes insectos como bioindicadores, nas ciências ambientais. Estes dois mirmeecólogos australianos abriram o caminho, pelo facto de terem iniciado e desenvolvido o corpo teórico de grupos funcionais, tendo em conta, nomeadamente relações de dominância da fauna de formigas australianas.

Com base em trabalhos desenvolvidos por Greenslade (1978), Andersen (1995) e Roig e Espadaler (2010), foi proposta uma distribuição dos *taxa* de formigas em oito grupos funcionais para a Península Ibérica e Ilhas Baleares da seguinte forma:

-  Invasivas e/ou exóticas (IE);
-  Generalistas e/ou oportunistas (GO);
-  Parasitas sociais (P);
-  Predadores especializados (SP);
-  Especialistas de madeira morta (CWDS);
-  Especialistas em climas frios e /ou habitats de sombra (CCS/HS);
-  Especialistas em climas quentes e / ou ambientes abertos (HCS/OH);
-  Crípticas (C).

Os grupos funcionais acima propostos foram assim, agrupados e considerados pela sua importância relativa, com o objectivo de proporcionar uma ferramenta de gestão para áreas naturais. Com isto, foram reunidos em três indicadores globais:

-  Indicador global de perturbação (incluindo IE e GO);
-  Indicador global de estabilidade (incluindo P, SP, CWDS, CCS/ HS e HCS/OH);



Indicador apenas com o grupo funcional de formigas designadas como Crípticas, sobre as quais existe pouco conhecimento (C).

Andersen (1995) apresentou estes indicadores, a fim de simplificar a avaliação de comunidades de formigas, bem como fornecem informações mais explícitas sobre as diferenças ambientais do que apenas informação sobre as características da comunidade, como é o caso da riqueza específica (Andrew *et al.*, 2000; Hoffman e Andersen, 2003). Uma vez que o autor separa as diferentes formigas, de acordo com interações competitivas, resposta a perturbações no ecossistema ou requisitos de habitat.



## 5. Material e métodos

### 5.1 Áreas de estudo

#### 5.1.1 Caracterização dos olivais

Durante os anos de 2011 e 2012, amostraram-se comunidades de formigas em oito olivais, localizados na região do Baixo Alentejo, distrito de Beja, mais precisamente nos concelhos de Beja, Moura e Serpa, sujeitos a diferentes sistemas de cultivo: biológico, intensivo e superintensivo. Dos oito olivais seleccionados, quatro estão em modo de produção biológico, dois em regime intensivo e outros dois em regime superintensivo (Figura 4). Com a seguinte localização e caracterização no Quadro 1: Biológico Serpa (37°53'59.1"N 7°32'24.3"W); Biológico Póvoa (38°12'56.9"N 7°18'53.7"W); Biológico Moura 1 (38°8'59.3"N 7°25'58.4"W); Biológico Moura 2 (38°8'11.1"N 7°29'7.1"W); Intensivo Neves (38°0'28.1"N 7°47'24.3"W); Intensivo Serpa (37°57'26.1"N 7°31'2.5"W); Superintensivo Serpa (37°56'29.9"N 7°31'21.4"W); Superintensivo Moura (38°8'25.1"N 7°30' 44.7"W). Todos os olivais Biológicos têm como cultivar Cordovil, contrariamente ao olival Intensivo Neves, onde a cultivar é a Cobrançosa, e os restantes são de Arbequina.



**A**



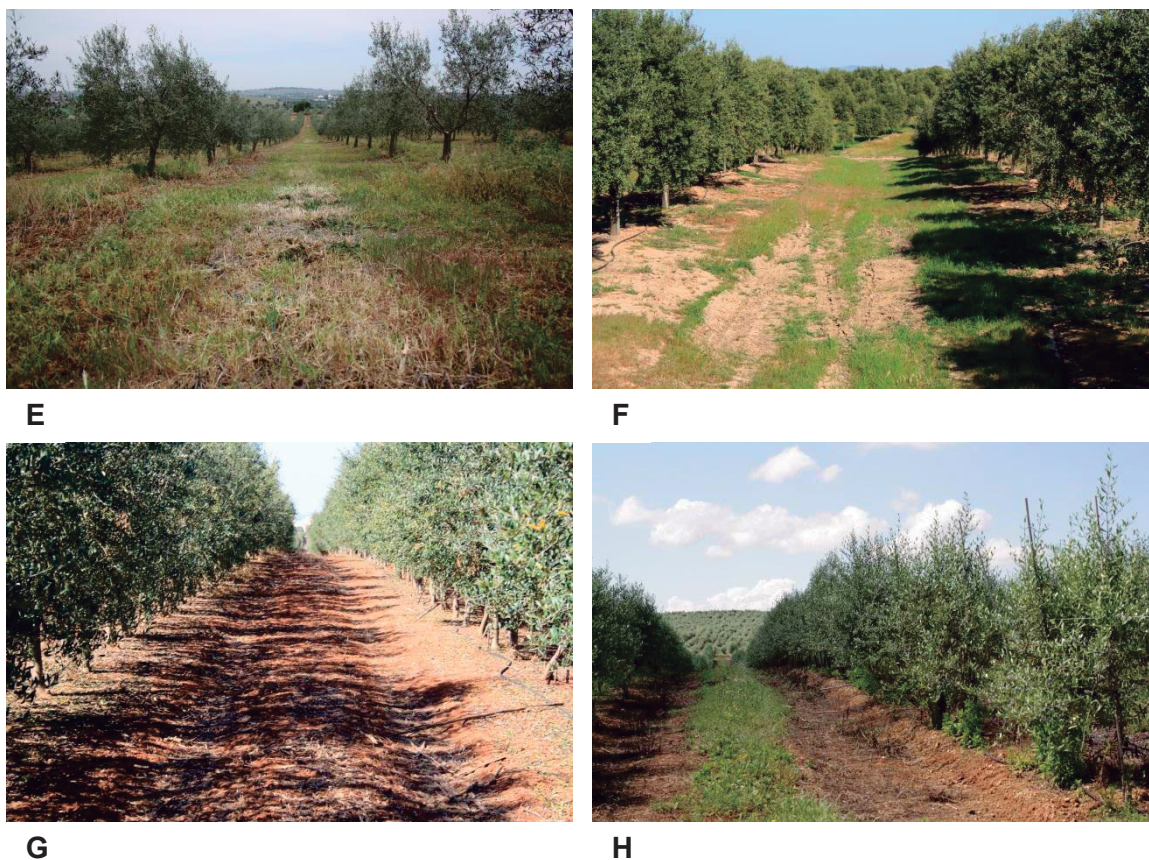
**B**



**C**



**D**



**Figura 4** – Olivais de estudo: A – Biológico Serpa; B – Biológico Póvoa; C – Biológico Moura 1; D - Biológico Moura 2; E - Intensivo Neves; F - Intensivo Serpa; G - Superintensivo Serpa; H - Superintensivo Moura (originais da autora).



**Quadro 1** – Caracterização dos oliveis em estudo

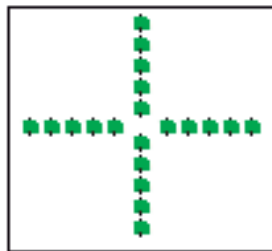
Olival	Área	Rega	Compasso	Práticas culturais	Coberto vegetal	Densidade (nº árvores x ha)	Idade
<b>Biológico Serpa</b>	92	Sim	7x6	Mobilização na linha; Corte das infestantes na entrelinha; Fertirrega a partir de maio; Fertilização em fevereiro.	Vegetação natural Trevo semeado	238	6
<b>Biológico Póvoa</b>	7	Sim	6x6	Corte das infestantes na linha e na entrelinha; Fertilização em fevereiro.	Vegetação natural Trevo semeado	278	5
<b>Biológico Moura 1</b>	2	Não	10x10	Mobilização na linha e na entrelinha.	Vegetação natural	100	>100
<b>Biológico Moura 2</b>	19	Não	disperso	Pastoreado. Herbicida na linha;	Vegetação natural	70	>100
<b>Intensivo Neves</b>	8	Sim	6,5x6,5	Corte das infestantes na entrelinha; Fertirrega.	Vegetação natural	240	7
<b>Intensivo Serpa</b>	170	Sim	7x5	Herbicida na linha; Corte das infestantes na entrelinha; Fertirrega.	Vegetação natural	285	5
<b>Superintensivo Serpa</b>	270	Sim	3,5x1,35	Fertirrega a partir de março com fertilizante binário ou terciário; Herbicida na linha e entrelinha.	Não	1976	4
<b>Superintensivo Moura</b>	22	Sim	4x1,45	Herbicida na linha; Corte das infestantes na entrelinha; Fertirrega com um fertilizante binário ou terciário.	Vegetação natural	1786	2



## **5.2 Técnicas de amostragem**

### **5.2.1 Técnica das pancadas**

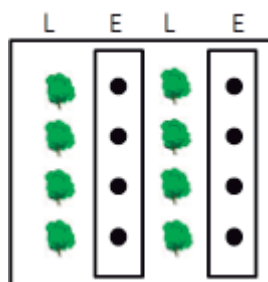
Esta técnica de amostragem consiste na selecção de 2 ramos de lados opostos da árvore, (um na direcção Sul e outro na direcção Norte), a uma altura aproximada de 1,5-1,75m sobre o solo (Figura 5), os quais foram agitadas 2 vezes para dentro de uma manga entomológica, sendo repetido este processo 2 vezes em cada árvore. Após a captura com esta técnica, os artrópodes foram levados para o laboratório e colocadas no congelador para posterior triagem e identificação.



**Figura 5** – Esquema de amostragem relativo à técnica das pancadas.

### **5.2.2 Armadilhas de queda (pitfall)**

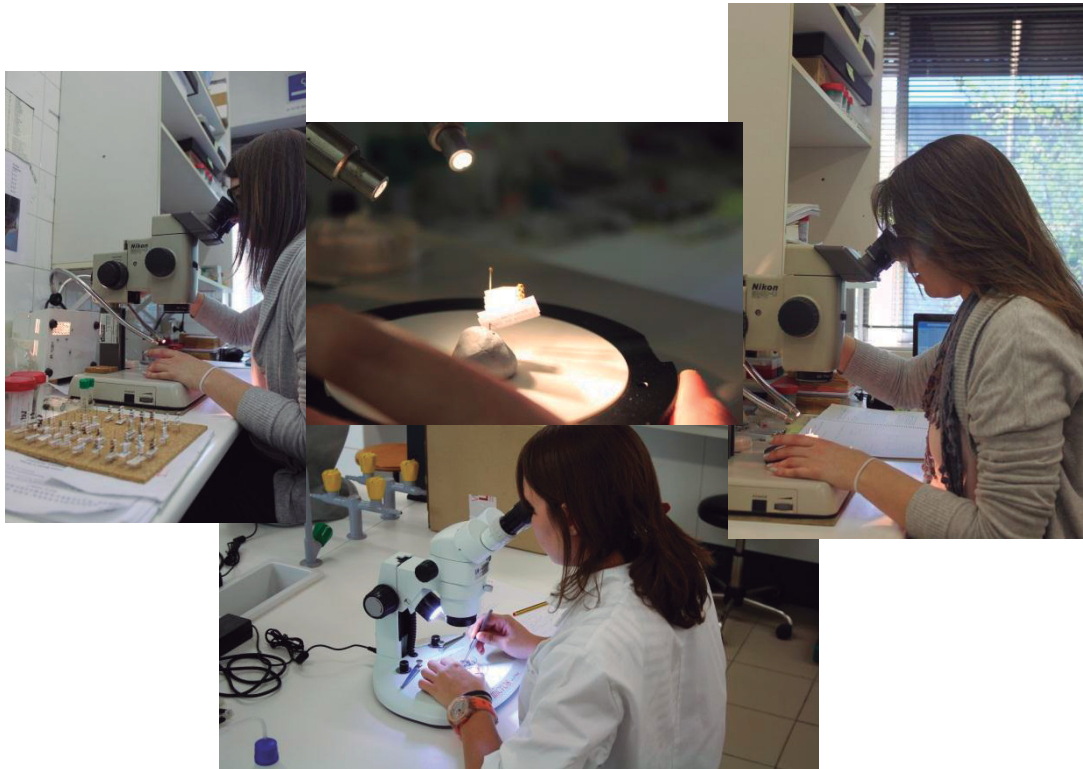
Esta técnica, desenvolvida para a recolha de artrópodes, consiste na colocação no solo de recipientes de plástico, preenchidos até metade da sua capacidade com uma substância que mate e conserve os espécimes, durante um certo tempo. Neste caso, para a recolha dos formicídeos foram colocadas, em cada olival, 16 armadilhas de queda ( $\varnothing=120\text{mm}$ , altura 130mm), 8 armadilhas na linha ( $4 \times 2$ ) e 8 na entrelinha ( $4 \times 2$ ), em quatro filas alternadas na linha e entrelinha de plantação, distanciadas 40-50m entre si (Figura 6). Foi utilizado etilenoglicol puro diluído a 50%, como líquido de captura. As armadilhas permaneceram no campo durante sete noites, tendo sido colocadas na linha debaixo da copa da árvore a 50cm da sapata ou tronco na orientação Sul e na entrelinha no centro de quatro árvores.



**Figura 6** - Esquema de amostragem relativo às armadilhas de queda.

### **5.3 Identificação de espécimes**

Os espécimes colhidos foram conservados em etanol a 70%, em tubos de Eppendorf de 1,5 ml devidamente etiquetados. Procedeu-se ao seu estudo e identificação, em laboratório, à lupa binocular (Figura 7), com base nas chaves de Collingwood e Prince (1998) e Gómez e Espadaler (2007), tendo em conta as adições de Boieiro *et al.* (2002, 2009); Salgueiro (2002, 2003). Alguns dos espécimes foram confirmados pelo Professor Xavier Espadaler. O material identificado encontra-se depositado no Departamento de Biociências da Escola Superior Agrária de Beja, mais propriamente no laboratório de Protecção de Plantas (laboratório 12), tendo sido cedidos alguns exemplares ao professor Xavier Espadaler. Toda a nomenclatura segue Bolton (2012).



**Figura 7** – Identificação dos espécimes, à lupa binocular (originais da autora).

## 5.4 Análise estatística

Para o delineamento estatístico foram utilizados os dados resultantes das amostragens realizadas neste trabalho, tendo sido agrupados por sistema de cultivo, onde se reuniram por cada dois oliveiras. Assim, Intensivo Neves com Intensivo Serpa (Intensivo); Superintensivo Serpa com Superintensivo Moura (Superintensivo), e por fim, relativamente aos oliveiras biológicas, uma vez distintos entre si, agruparam-se 2 a 2, tendo em conta os factores idade e regadio, o que dá origem a Bio 1, que inclui Biológico Serpa e Biológico Póvoa, ambos regados e com idades compreendidas entre 5 e 6 anos e Bio 2, incluindo Biológico Moura 1 e Biológico Moura 2, estes centenários e de sequeiro.

Todos os testes realizados ao longo deste trabalho foram conduzidos de forma exploratória, isto é, não se pretendem apoiar nas observações experimentais ou qualquer expectativa *a priori*. A intenção de descrever as propriedades dos dados não infere em qualquer relação causal entre os factores e as variáveis resposta.

É importante referir que, mesmo sem as amostras extremas (outliers) (pitfall>500) os resultados da análise efectuada são precisamente idênticos. Verificando-se assim: olival Biológico Serpa: 1 pitfall com um total de 1248 formigas, onde 1197 pertencem à espécie *Messor barbarus*; olival Biológico Póvoa: 1 pitfall com um total de 2556 formigas, onde 2500 pertencem ao género *Pheidole* e 1 pitfall com 5575 formigas, todas do género *Pheidole*; olival Biológico Moura 2: 1 pitfall com um total de 2300 formigas, onde 2280 pertencem à espécie *Tapinoma nigerrimum*. Contudo, essas amostras foram mantidas durante toda a análise.

Todos os dados foram considerados independentes, ou seja repetições, uma vez que cada copa/pitfall estão distanciadas mais de 5 metros (King e Porter, 2005; Schlick-Steiner *et al.* 2006).

### 5.4.1 Esforço de amostragem

A riqueza de espécies é o estimador mais usado como medida da biodiversidade (Gaston, 1996). Distintas técnicas de amostragem, variações no esforço (repetições) de amostragem ou nos habitats estudados, podem dificultar a interpretação da variável em estudos comparativos (Gotelli e Colwell, 2001). Existem assim, diversas soluções analíticas para solucionar parcialmente estes problemas, sendo uma delas, as curvas de acumulação

de espécies (Gotelli e Colwell, 2001) que são analiticamente simples e de imediata compreensão.

No presente trabalho, a fim de avaliar o Esforço das amostragens obtidas nos oito olivais, seguiu-se o procedimento proposto por Brose *et al.* (2003), para escolher qual dos estimadores não paramétricos se pode ou deve usar para avaliar o quão exaustivo é a amostragem. Brose *et al.* (2003) propõem uma árvore de decisões que permite escolher o estimador mais adequado. No nosso trabalho, aquele estimador coincide com o de Hortal *et al.* (2006). Para obter os estimadores foi usado o programa EstimateS v. 8.2.

O programa EstimateS v 8.2: foi utilizado para o cálculo de curvas de acumulação de espécies observadas; estimadores não paramétricos de riqueza de espécies (Chao2, ICE, Jackknife1 e Jackknife2) baseados em dados de incidência em pitfall (presença/ausência nas unidades de amostra).

É de salientar que as espécies detectadas usando a técnica das pancadas (copa) são um subconjunto, e estão todas presentes na lista de espécies obtidas nas armadilhas de queda (pitfall). Além de que, a abundância foi muito menor (total em copas vs. total em pitfall). Por isso, optou-se por analisar unicamente os dados provenientes de pitfall.

#### **5.4.2 Abundância**

A abundância é um conceito estatístico muito utilizado em ecologia para determinar o tamanho da população de uma espécie num determinado habitat. Neste caso, corresponde ao número de indivíduos (N), por espécie recolhidos em cada olival.

Para a abundância como variável resposta, foi usado o programa estatístico Statistica v 8, procedendo-se a uma análise de variância ANOVA, do tipo paramétrico, e com o teste post-hoc Tukey's HSD o resultado era significativo (Quinn e Keough, 2002). Explorou-se os efeitos dos diferentes factores: sistema de cultivo, localização (linha e entrelinha no caso das armadilhas de queda e árvore no caso da técnica das pancadas) e densidade.

Devido à grande quantidade de zeros os valores de abundância foram transformados em  $\log_{10}(X+1)$ .

### **5.4.3 Riqueza específica**

A riqueza específica também é um conceito estatístico muito utilizado na análise de comunidades de formigas (Fleishman *et al.*, 2000; Dunn *et al.*, 2007) e corresponde ao número total de espécies (S) numa determinada amostra.

Assim, foi usado o programa Statistica v 8, de forma a explorar os efeitos dos diferentes factores: sistema de cultivo, localização (linha e entrelinha no caso das armadilhas de queda e árvore no caso da técnica das pancadas) e densidade, sobre a riqueza como variável resposta.

### **5.4.4 Composição**

Para esta variável resposta, foi usado o programa PRIMER v.6 a fim de explorar o efeito de diferentes factores sobre a composição das comunidades, utilizando a similaridade Bray-Curtiss. O módulo ANOSIM foi utilizado como um equivalente permutacional do ANOVA.

Numa análise ANOSIM, e a partir da matriz de distâncias Bray-Curtiss permutam-se aleatoriamente as etiquetas (níveis de factores), de seguida efectuam-se as permutações (999), obtém-se um valor de R (valor estatístico) e verifica-se se há diferença entre os níveis, isto é se R se aproxima de 1 (tem um valor positivo), ou se aproxima de 0, o que significa que não há diferenças.

### **5.4.5 Índices de diversidade**

O programa EstimateS v 8.2. foi utilizado para calcular os índices Shannon-Wiener, Simpson, e de Fisher's alfa (índices de diversidade).

### **5.4.6 Grupos funcionais**

Os dados obtidos, após a identificação das amostras, foram introduzidos em folhas de Excel<sup>TM</sup>, procedendo-se de seguida ao cálculo do número de espécies por olival, de forma a determinar o grau de perturbação dos olivais, aplicando-se a cada espécie o grupo funcional correspondente.

## 6. Resultados

### 6.1 Comunidade de formicídeos nos oliveais estudados

Ao longo deste estudo, na soma dos dois anos (2011 e 2012), foram identificados 42864 indivíduos (não inclui o número de machos e rainhas, uma vez que estes não entram para estudos de comunidades), compreendidos em 4 subfamílias, 16 géneros e 34 espécies (Quadro 2).

**Quadro 2** - Espécies de formigas e respectivo número de exemplares, identificados nos oliveais onde foram recolhidos, associado o grupo funcional a que cada uma pertence

Espécie	Grupo Funcional	Biológico 1			Biológico 2			Intensivo			Superintensivo			Total
		Biológico Serpa	Biológico Póvoa	Biológico Moura 1	Biológico Moura 2	Intensivo Neves	Intensivo Serpa	Superintensivo Serpa	Superintensivo Moura					
Dolichoderinae														
Tapinoma madeirense	GO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2
Tapinoma nigerrimum <sup>a b</sup>	GO	479	542	21	3403	53	318	17	58	4891				
Tapinoma simrothi <sup>a</sup>	GO	153	98	4	0	14	32	37	9	347				
Formicinae														
Camponotus cruentatus <sup>a b</sup>	HCS/OH	0	0	1	0	24	0	0	0	25				
Camponotus foreli <sup>a b</sup>	HCS/OH	24	7	0	0	0	0	0	0	31				
Camponotus lateralis <sup>a b</sup>	CCS/SH	0	1	24	23	0	0	0	0	48				
Camponotus micans	HCS/OH	3	4	0	0	0	0	0	12	19				
Camponotus pilicornis	HCS/OH	0	0	0	4	7	0	0	0	11				
Camponotus sylvaticus	HCS/OH	8	0	9	2	28	0	0	1	48				
Cataglyphis hispanica <sup>b</sup>	HCS/OH	324	772	57	0	13	0	0	0	1166				
Cataglyphis iberica	HCS/OH	20	0	0	0	0	0	0	0	20				
Cataglyphis sp. <sup>b</sup>	HCS/OH	262	83	3	56	313	163	3	65	948				
Formica cunicularia	GO	0	0	0	0	0	0	0	5	5				
Formica subrufa <sup>a b</sup>	HCS/OH	0	6	1	84	0	0	0	0	91				

Efeito do sistema de cultivo de olivais no Baixo Alentejo nas comunidades de formigas

<i>Lasius grandis</i> <sup>b</sup>	CCS/SH	0	0	0	0	3	0	4	64	71
<i>Lasius lasioides</i> <sup>a b</sup>	CCS/SH	0	1	24	0	0	0	1	0	26
<i>Plagiolepis pygmaea</i> <sup>a b</sup>	GO	3	39	138	42	17	2	86	60	387
<i>Plagiolepis schmitzii</i> <sup>a b</sup>	GO	1	18	2	11	301	1	148	5	487
<b>Myrmicinae</b>										
<i>Aphaenogaster gibbosa</i>	C	0	1	1	0	0	1	1	0	4
<i>Aphaenogaster senilis</i> <sup>a b</sup>	GO	1734	793	1219	1090	1029	376	144	368	6753
<i>Cardiocondyla batesii</i>	GO	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Crematogaster auberti</i> <sup>a b</sup>	GO	107	221	12	13	432	1	0	3	789
<i>Crematogaster scutellaris</i> <sup>a b</sup>	GO	2	4	339	255	3	1	0	0	604
<i>Crematogaster sordidula</i> <sup>b</sup>	GO	0	2	31	1	0	0	0	1	35
<i>Goniomma hispanicum</i>	HCS/OH	0	0	0	28	0	0	0	0	28
<i>Messor barbarus</i> <sup>b</sup>	HCS/OH	3033	1226	238	2198	1245	2407	90	549	10986
<i>Messor capitatus</i>	HCS/OH	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Pheidole pallidula</i> <sup>b</sup>	GO	4	9981	137	21	427	2	665	1782	13019
<i>Solenopsis</i> sp.	C	0	0	1	0	0	0	0	1	2
<i>Temnothorax tyndalei</i> <sup>c</sup>	C	0	7	0	0	0	0	0	0	7
<i>Tetramorium biskrense</i>	GO	0	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Tetramorium forte</i>	GO	0	3	1	28	2	1045	0	2	1081
<i>Tetramorium semilaeve</i>	GO	538	59	31	65	139	39	35	21	927
<b>Ponerinae</b>										
<i>Hypoponera eduardi</i>	SP	0	0	0	0	0	3	0	0	3
<b>Total de exemplares (N)</b>		6696	13868	2294	7324	4050	4391	1232	3009	42864
<b>Total de espécies (S)</b>		17	21	21	17	17	14	13	19	34

<sup>a</sup> Espécie presente na copa 2011; <sup>b</sup> Espécie assinalada, pela primeira vez, em Portugal Continental



## 6.2 Esforço de amostragem

A curva de acumulação do sistema Superintensivo difere visivelmente das curvas dos outros três sistemas de cultivo. Assim como nestes, a curva aproxima-se da saturação, no Superintensivo continua a incrementar-se o número acumulado de espécies que aparecem. Como se verá nos capítulos relativos à abundância e à riqueza, é inegável que os sistemas de cultivo têm um efeito muito marcado nas formigas (Figura 8, Figura 9). A simples constatação do número de indivíduos capturados, mostra que um sistema (Bio 1) favorece claramente a abundância (20564 formigas), outro (Superintensivo) aparentemente limita essa abundância (4241 formigas). Por sua vez, os outros dois sistemas, o Bio 2 (com 9618 formigas) e o Intensivo (com 8441 formigas) mostra valores intermédios. Não podemos eliminar um simples efeito de amostragem naquela riqueza: em parte, pode ser devida à que apresenta mais abundância, maior riqueza. Isso é perfeitamente possível, uma vez que há uma relação muito estreita, e estatisticamente significativa, entre uma e outra variável (Figura 10). A abundância explicaria 65% da variação da riqueza.

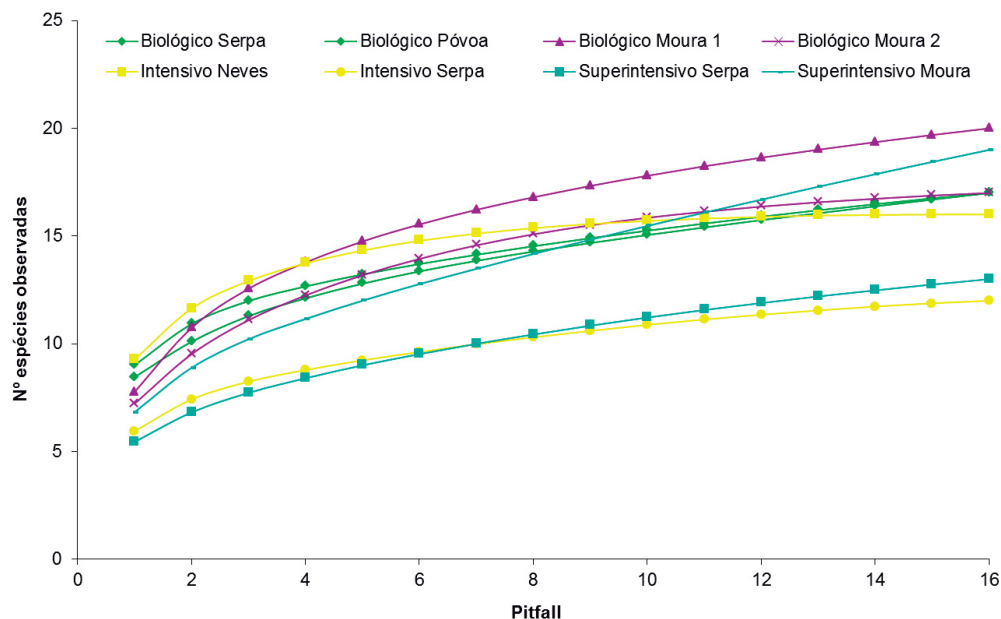
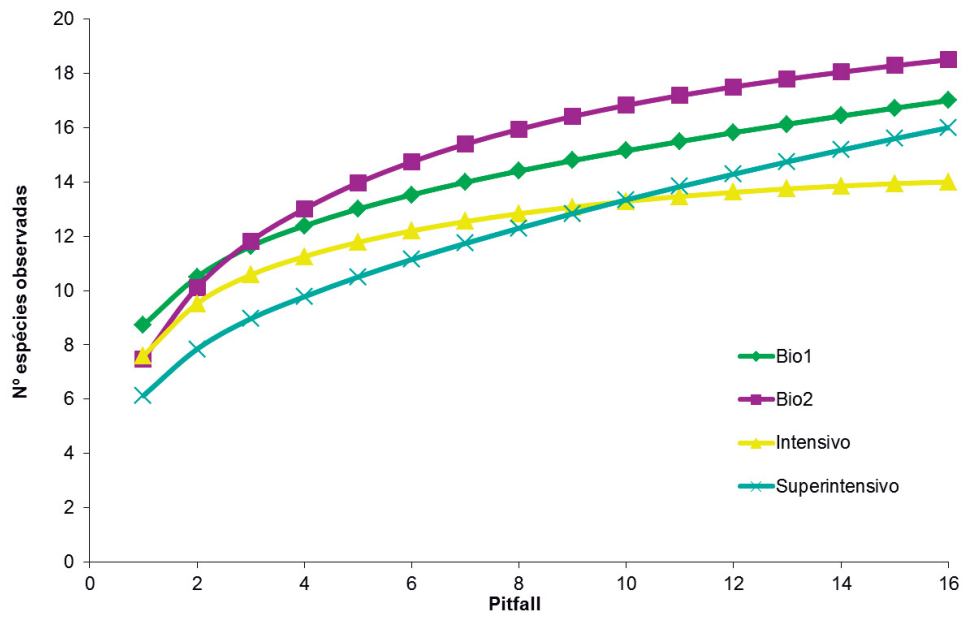
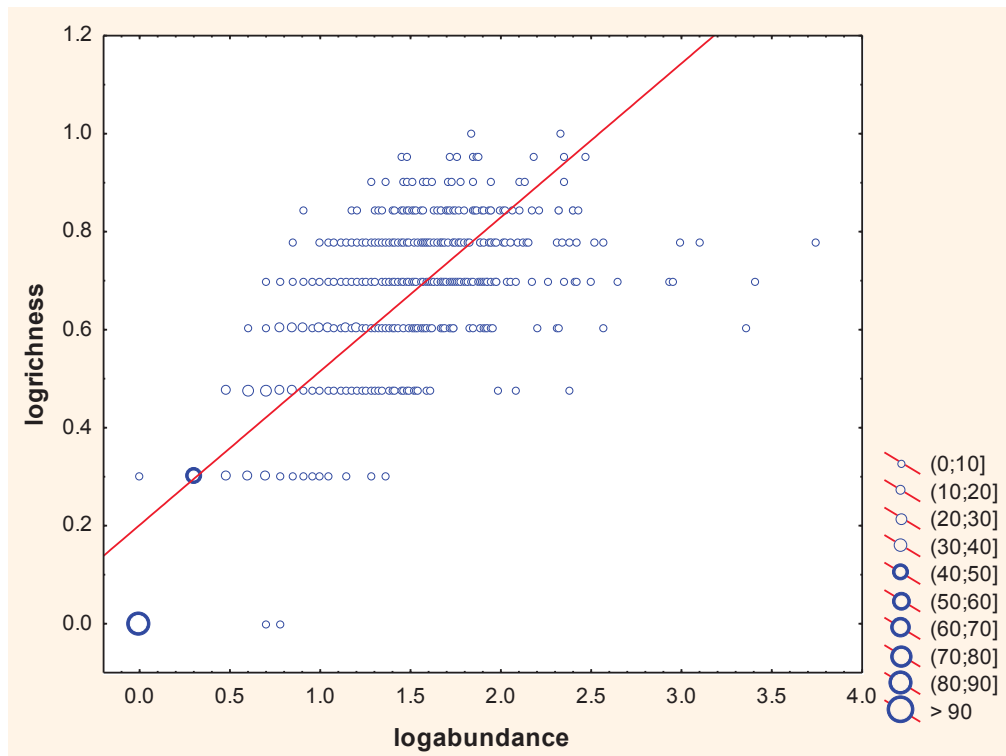


Figura 8 - Curvas de acumulação de espécies, no solo por olival.





**Figura 9** – Curvas de acumulação de espécies, no solo por sistema de cultivo.



**Figura 10** - Relação entre abundância e riqueza. Foram incluídos todos os dados (anos, sistemas de cultivo e localidades).  $\text{Logrichness} (= \text{logriqueza}) = 0,2013 + 0,314 \cdot \text{Logabundance} (= \text{logabundância})$ ;  $r = 0,8079$ ;  $p = 0,0000$ ;  $r^2 = 0,6527$ .

Outros factores, que poderiam explicar os restantes 35% de variação no número de espécies, podem estar relacionados com o uso de insecticidas que vão alterar directamente a abundância, e pelo uso de herbicidas, que podem modificar as condições do solo, especialmente a temperatura e humidade, que afectam indirectamente a abundância.

Os mecanismos que possam intervir naquele primeiro efeito – maior abundância – estão fora do âmbito desta tese, e mereceriam uma exploração detalhada de correlações entre condições físicas do meio e a abundância ou, mais importante, um trabalho experimental onde variassem determinadas condições do meio – por exemplo, regar experimentalmente algumas parcelas nos olivais de sequeiro e observar-se a resposta dos formicídeos nestes.

De acordo com a árvore de decisão em Brose *et al.* (2003), o estimador que deve ser usado é Jackknife1. Usando este estimador, o esforço de amostragem (Quadro 3) oscila entre os 70% e os 100%, sugerindo que em alguns olivais se podem detectar várias espécies adicionais. Também não se deve descartar possibilidade de que nos olivais se de o processo dinâmico de dívida de extinção latente (Hanski, 2013; Kuusari *et al.* 2009). Os estimadores manifestam o seu efeito, para detectar uma maior instabilidade nos olivais que tinham essa dívida mais elevada.

**Quadro 3** - Espécies observadas e estimadas nos oito olivais. Estão indicados os estimadores usados e o grau em que se pode considerar o inventário específico como completo

	<b>Obs. Mao-Tau</b>	<b>ICE</b>	<b>Chao2</b>	<b>Jack1</b>	<b>Jack2</b>	<b>Média</b>	<b>% Esforço</b>
<b>Biológico Serpa</b>	17	22,52	26,38	21,69	26,06	24,16	70,36
<b>Biológico Póvoa</b>	17	22,55	21	20,75	22,62	21,73	78,23
<b>Biológico Moura 1</b>	20	24,2	26,25	24,69	27,43	25,64	78,00
<b>Biológico Moura 2</b>	17	18,09	18	18,88	18,99	18,49	91,94
<b>Intensivo Neves</b>	16	16	16	16	14,37	15,59	102,61
<b>Intensivo Serpa</b>	12	13,88	12,67	13,88	13,18	13,40	89,54
<b>Superintensivo Serpa</b>	13	18,5	17	16,75	18,62	17,72	73,37
<b>Superintensivo Moura</b>	19	39,77	59,5	27,44	34,5	40,30	47,14
							78,90

Neste caso, seriam aqueles que estão sujeitos a uma utilização de insecticidas e herbicidas. Obviamente, cada olival tem a sua história particular de gestão e podem ser diferentes na dinâmica de colonização/extinção de espécies.

### **6.3 Abundância**

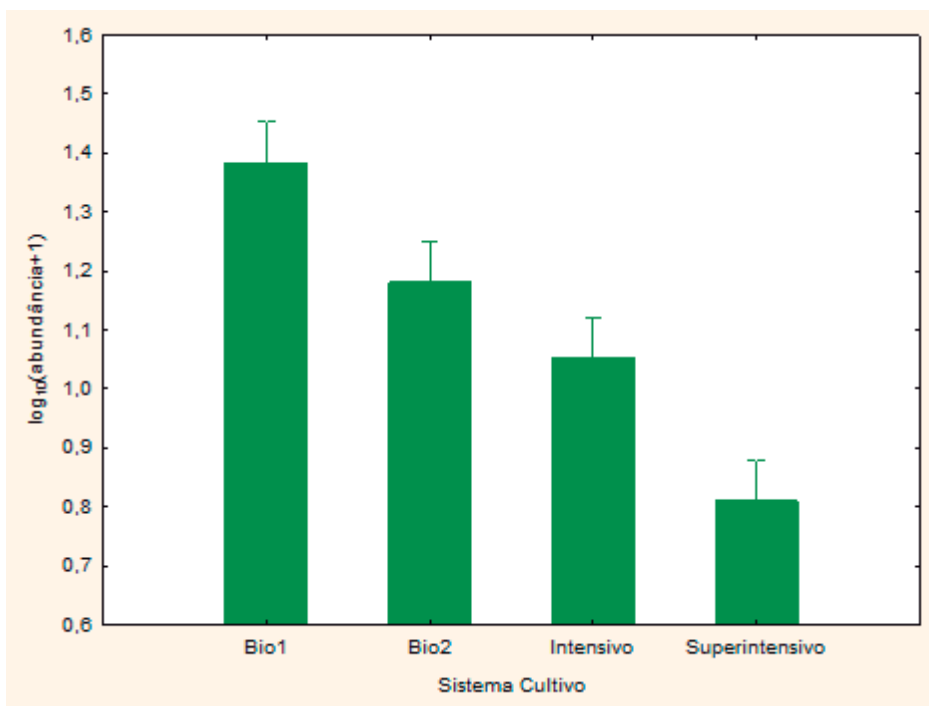
#### **Pitfall**

Quanto à amostragem efectuada no solo, foram recolhidas amostras de 1024 armadilhas de queda, provenientes dos oito olivais (x8), onde foram instaladas dezasseis pitfall (x16), em quadro datas de amostragem (x4), no conjunto dos dois anos (x2).

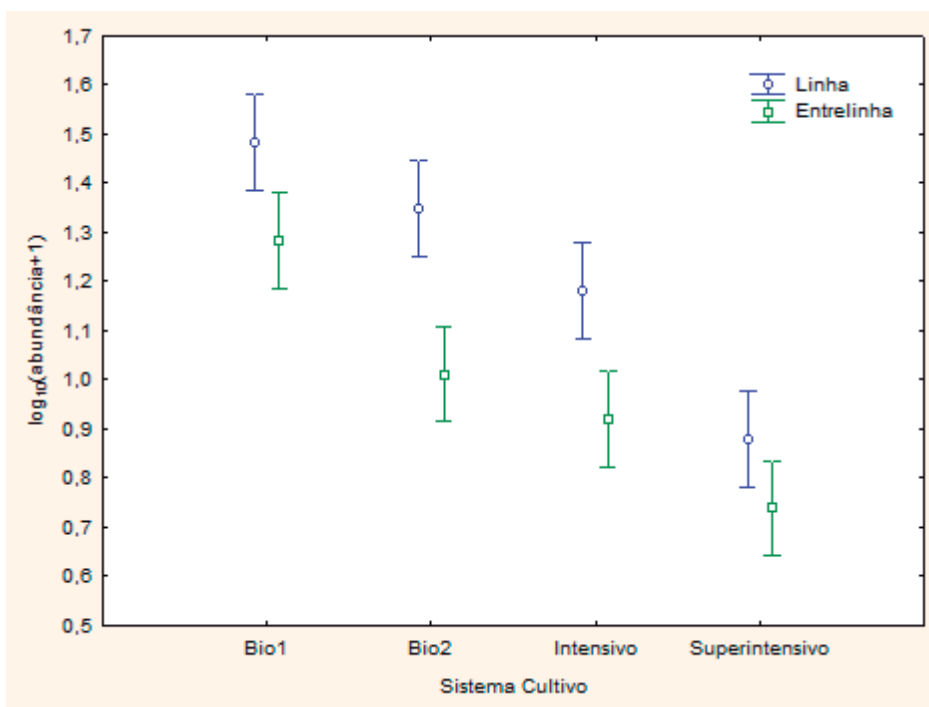
Para o cálculo da abundância foi efectuada uma análise ANOVA com sistema de cultivo (n=4) e localização (n=2) como factores fixos.

Após esta análise, verificou-se que o sistema de cultivo afecta significativamente a abundância de formigas ( $F_3=47,4$ ;  $P<0,001$ ) (Figura 11) e o mesmo se aplica à localização ( $F_1=45,5$ ;  $P<0,001$ ), no sentido em que as pitfall localizadas nas linhas capturaram consistentemente mais formigas em comparação com as pitfall localizadas nas entrelinhas.

Relativamente, a interacção entre as duas variáveis, esta não foi significativa ( $F_{2,1}=1,48$ ;  $P=0,22$ ) (Figura 12). Um teste post-hoc (Tukey's HSD) indica que todos os sistemas de cultivo são significativamente diferentes entre si.



**Figura 11** - Efeito do sistema de cultivo sobre a abundância (média) de formigas em armadilhas de queda (n=8 pitfall x 2 localizações x 2 anos x 2 oliveiras/sistemas de cultivo). As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.

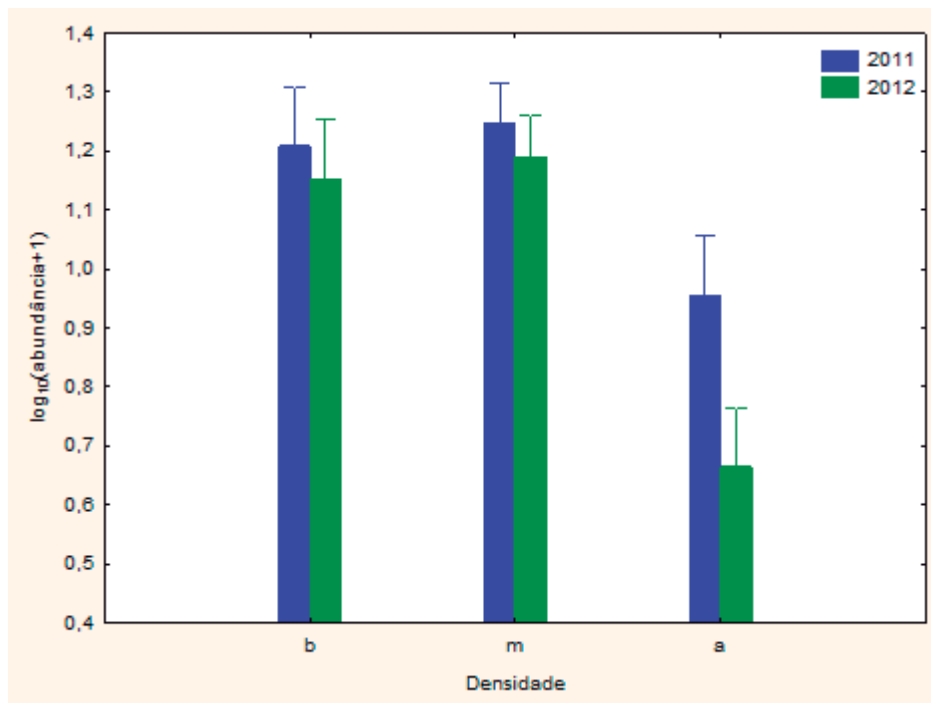


**Figura 12** - Abundância de formigas de acordo com a interacção entre o sistema de cultivo (Bio1; Bio2; Intensivo; Superintensivo) e a localização (linha, entrelinha) em pitfall. As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.

É de salientar que, se a análise é efectuada exclusivamente com os dados dos meses 5 (maio) e 6 (junho), o resultado é o mesmo.

Quanto à densidade, efectuou-se uma análise ANOVA com densidade (n=3) e ano (n=2) como factores fixos.

A densidade afecta significativamente a abundância de formigas em armadilhas de queda ( $F_2 = 45,3$ ;  $P < 0,001$ ) embora apenas os oliveiros com alta densidade apresentem diferenças significativas relativamente aos outros dois níveis de densidade. O ano afecta significativamente a abundância nas pitfall ( $F_1 = 12,5$ ;  $P < 0,001$ ), assim como a interacção densidade x ano ( $F_{2,1018} = 3,99$ ;  $P = 0,018$ ) (Figura 13).

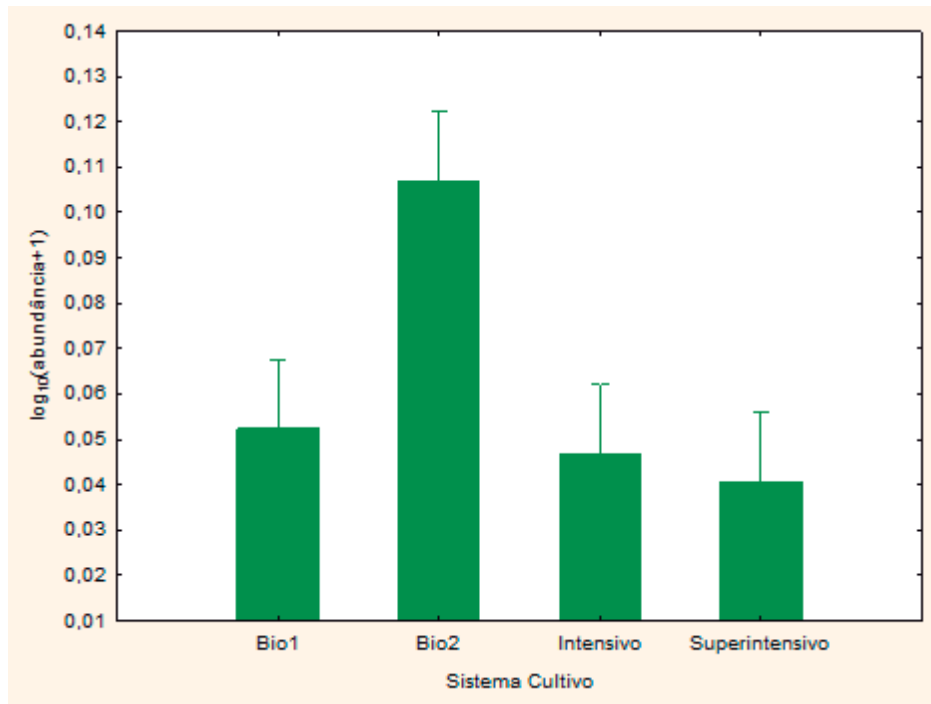


**Figura 13** - Efeito da densidade de árvores sobre a abundância de formigas em armadilhas de queda. Três níveis de densidade: b (baixa); m (médio); a (alta). As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.

## Copa

Por outro lado, quanto às amostragens efectuadas na copa, foram recolhidas amostras de 1600 armadilhas de queda, provenientes dos oito oliveiros (x8), onde foram amostradas vinte árvores (x20), em cinco datas de amostragem (x5), no conjunto dos dois anos (x2).

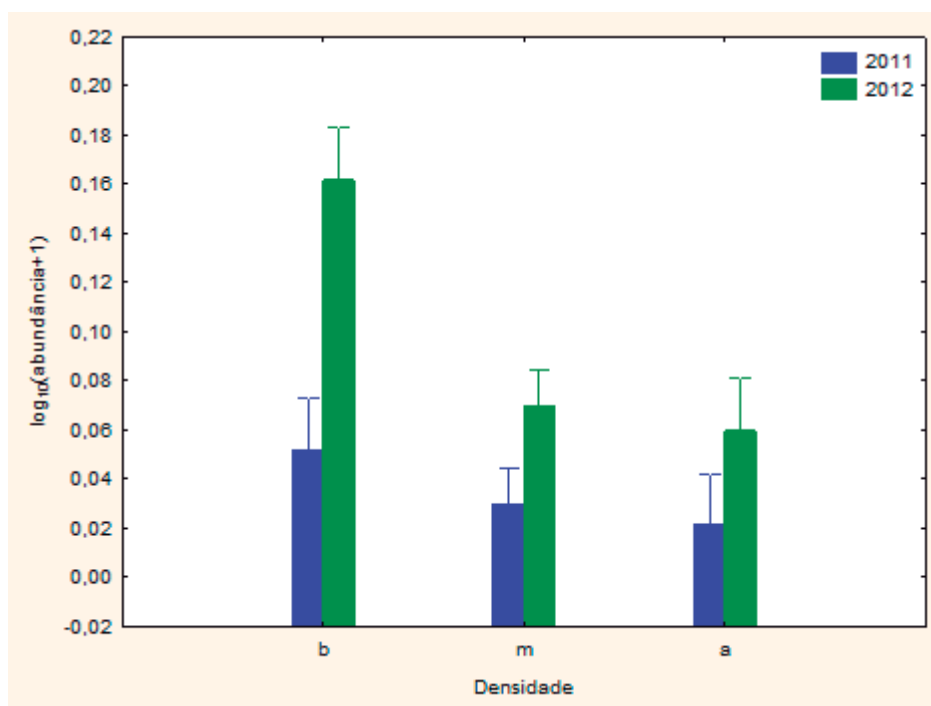
Relativamente à técnica das pancadas, e com uma análise ANOVA, verifica-se que o sistema de cultivo afecta significativamente a abundância de formigas nas copas ( $F_3 = 15,5$ ;  $P < 0,001$ ) (Figura 14); esse efeito não é significativo aquando da localização (= árvore) ( $F_{19} = 0,85$ ;  $P = 0,65$ ) e o mesmo se aplica relativamente à interacção sistema de cultivo x localização ( $F_{57} = 0,71$ ;  $P = 0,95$ ).



**Figura 14** - Efeito do sistema de cultivo sobre a abundância (média) de formigas em copas. As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.

Um teste post-hoc (Tukey's HSD) indica que o sistema de cultivo Bio2 é significativamente diferente de todos os outros sistemas ( $P < 0,001$ ), embora estes não sejam estatisticamente diferentes entre si ( $P = 0,70$ ).

Foi realizado uma ANOVA com densidade ( $n=3$ ) e ano ( $n=2$ ) como factores fixos. A densidade afecta significativamente a abundância nas copas ( $F_2 = 24,5$ ,  $P < 0,001$ ) embora apenas nos oliveais com baixa densidade se verifique diferenças significativamente relativamente aos outros dois níveis de densidade (Tukey's HSD). O ano afecta significativamente a abundância ( $F_1 = 62,6$ ,  $P < 0,001$ ), assim como a interacção densidade x ano ( $F_{2,1594} = 8,3023$ ,  $P = 0,002$ ) (Figura 15).

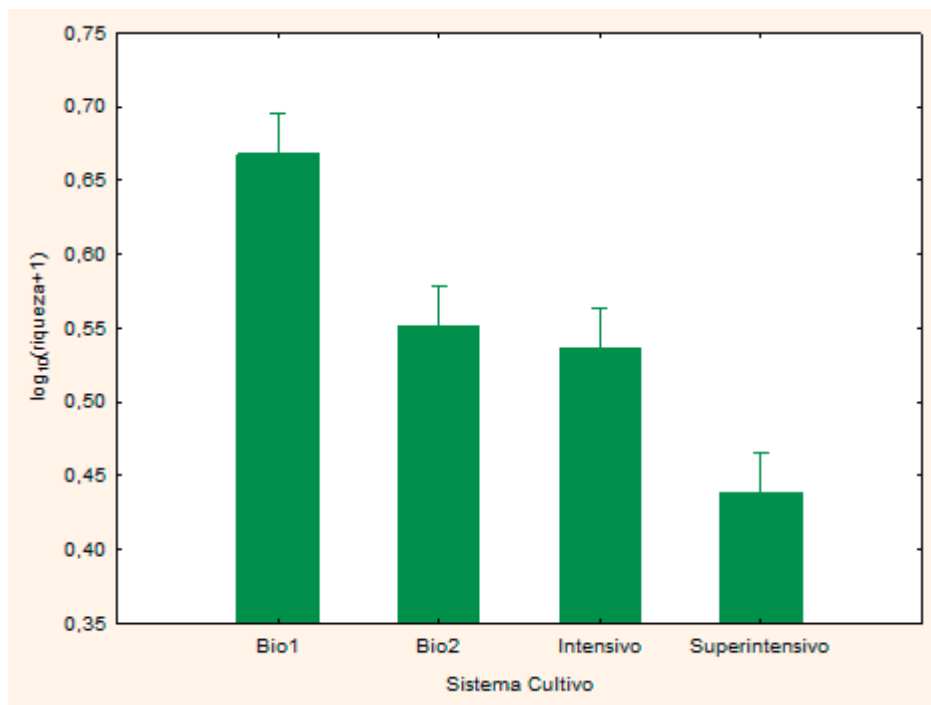


**Figura 15** - Efeito da densidade de árvores sobre a abundância de formigas em copas. Três níveis de densidade: b (baixa)=s; m (médio)=m; a (alta)=h. As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.

## 6.4 Riqueza específica

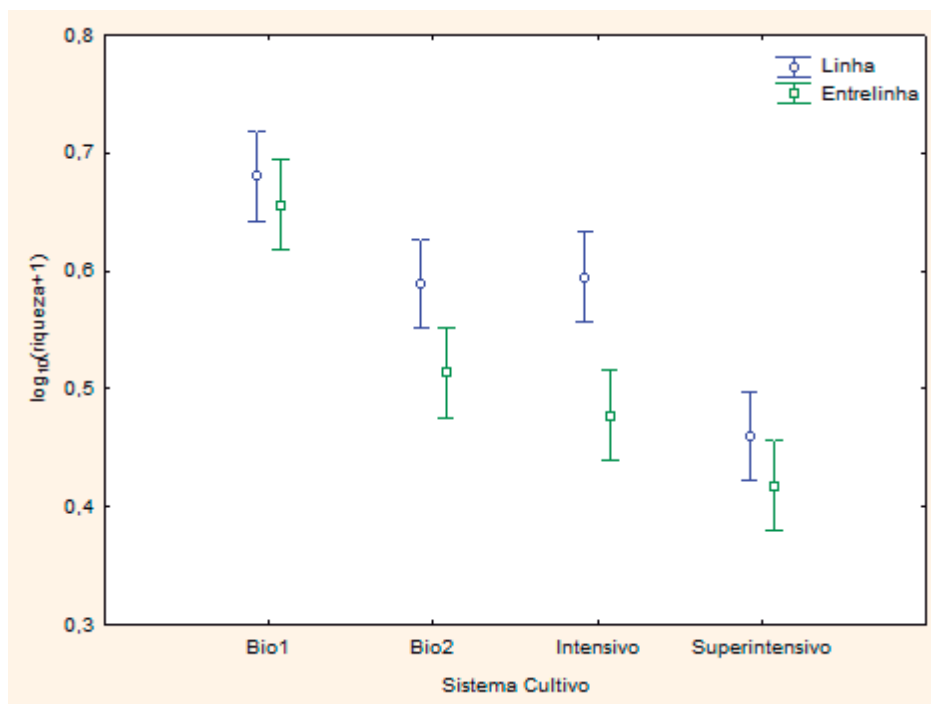
### Pitfall

Após uma análise ANOVA, observou-se que o sistema de cultivo afecta significativamente o número de espécies de formigas em armadilhas de queda (pitfall) ( $F_3=47,2$ ;  $P<0,001$ ) (Figura 16) e o mesmo se aplica à localização ( $F_1=22,4$ ;  $P<0,001$ ). A interacção entre as duas variáveis aproxima-se à significação estatística ( $F_3=2,2$ ;  $P=0,078$ ) (Figura 17). Um teste post-hoc (Tukey's HSD) indica que o sistema de cultivo Bio1 e Superintensivo são diferentes significativamente dos outros sistemas de cultivo ( $P<0,001$ ) e Bio2 e Intensivo não são significativamente diferentes ( $P=0,86$ ).



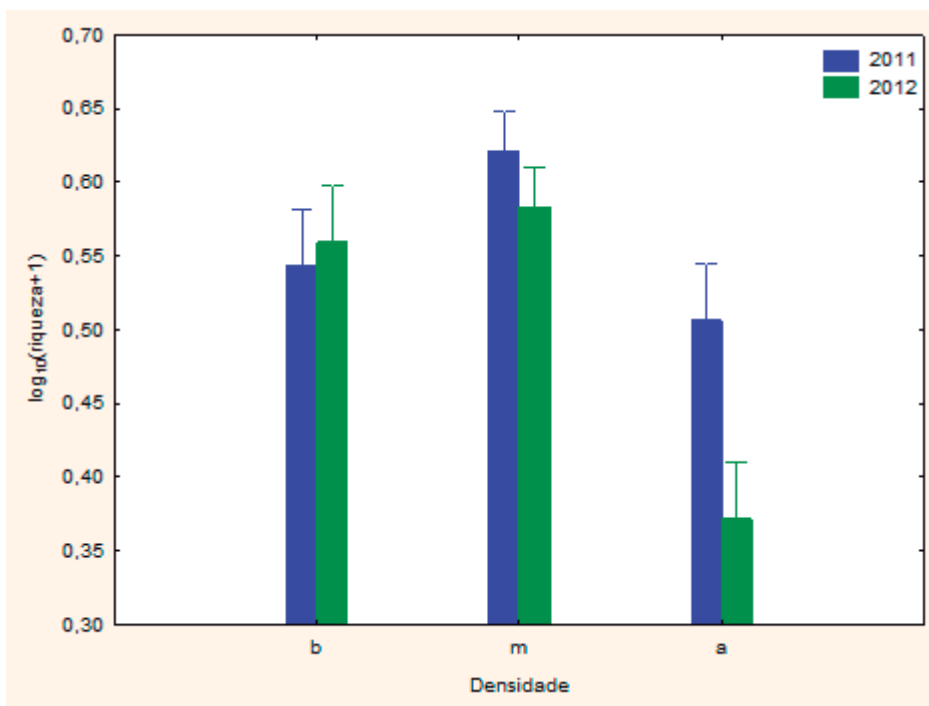
**Figura 16** - Efeito do sistema de cultivo sobre a riqueza (média) de formigas em armadilhas de queda ( $n=8$  pitfall x 2 localizações x 2 anos x 2 olivais/sistemas de cultivo). As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.





**Figura 17** - Riqueza de espécies de formigas de acordo com a interacção entre o sistema de cultivo (biológico, intensivo e superintensivo) e a localização (linha, entrelinha) em pitfall. As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.

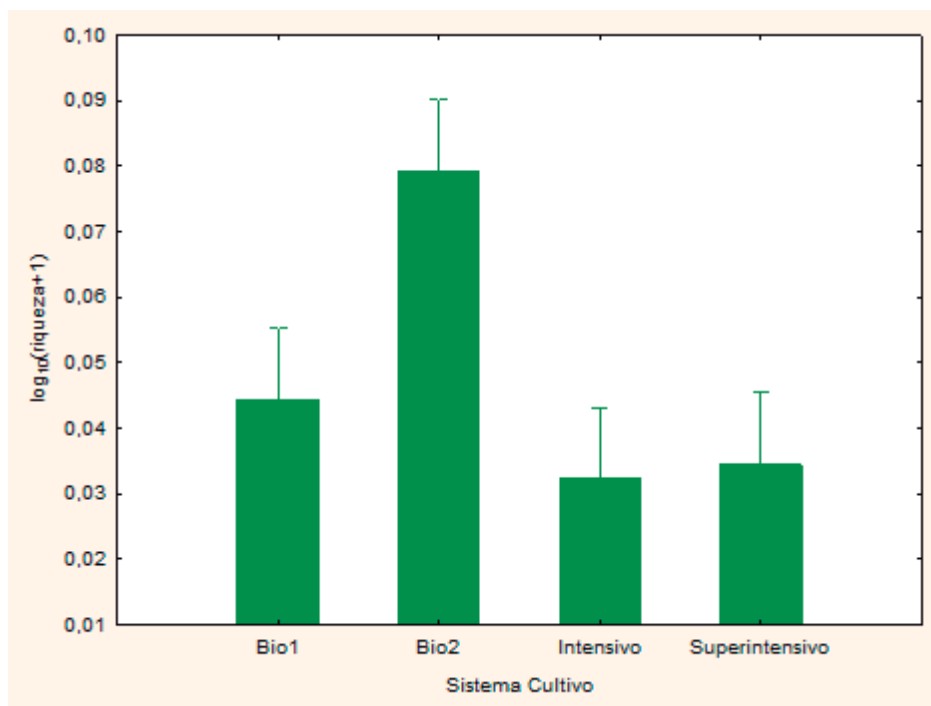
A densidade de árvores afecta significativamente a riqueza em armadilhas de queda ( $F_2=45,43$ ;  $P<0,001$ ) e todos os três níveis são significativamente diferentes entre si (Tukey's HSD;  $P<0,01$ ). O ano afecta significativamente a riqueza em pitfall ( $F_1=12,5$ ;  $P<0,001$ ), assim como a interacção densidade x ano ( $F_{2,1018}= 7,582$ ;  $P=0,0005$ ) (Figura 18).



**Figura 18** - Efeito da densidade de árvores sobre a riqueza de formigas em pitfall. Três níveis de densidade: b (baixa); m (média); a (alta). As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.

## Copa

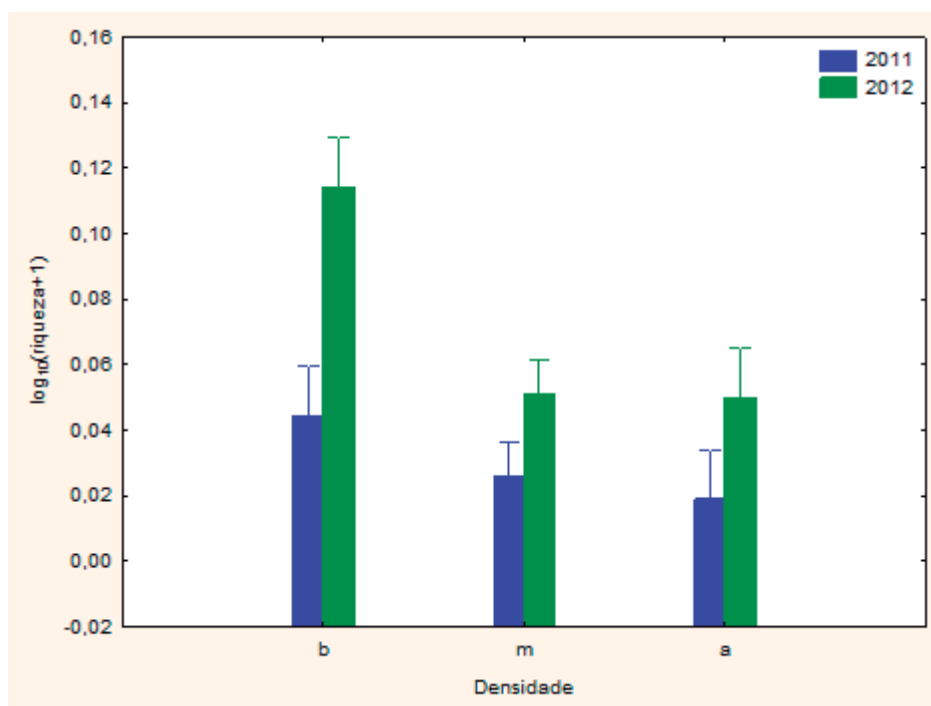
Realizando uma ANOVA com sistema de cultivo ( $n=4$ ), mostra que este afecta significativamente o número de espécies na copa ( $F_3=15,2$ ;  $P<0,001$ ) (Figura 19). Um teste post-hoc (Tukey's HSD) indica que essa diferença se deve apenas ao sistema de cultivo Bio2.



**Figura 19** - Efeito do sistema de cultivo sobre a riqueza (média) de formigas em copas. As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.

A árvore individual é o equivalente da linha vs. entrelinha. Uma ANOVA factorial com sistema de cultivo vs. localização (= árvore) mostra um efeito nulo ( $F_{19}=1,13$ ;  $P=0,31$ ).

Relativamente à densidade, esta afecta significativamente a riqueza em copas ( $F_2=22,5$ ;  $P<0,001$ ) embora apenas nos oliveais com baixa densidade se verifique diferenças significativas relativamente aos outros dois níveis de densidade (Tukey's HSD). O ano afecta significativamente a riqueza em copas ( $F_1= 52,9$ ;  $P<0,001$ ) assim como a interacção densidade x ano ( $F_{2,1594}= 5,75$ ;  $P=0,003$ ) (Figura 20).



**Figura 20** - Efeito da densidade de árvores sobre a riqueza de formigas em copas. Três níveis de densidade: b (baixa); m (médio); a (alta). As barras verticais indicam um intervalo de confiança de 0.95.

## **6.5 Composição**

Foi usado como variável resposta o número de pitfall (de 0 a 16) e o número de copas (de 0 a 20) nas que tem cada uma das espécies componentes da comunidade. Os dados anuais foram mantidos separados ( $n=2$ ).

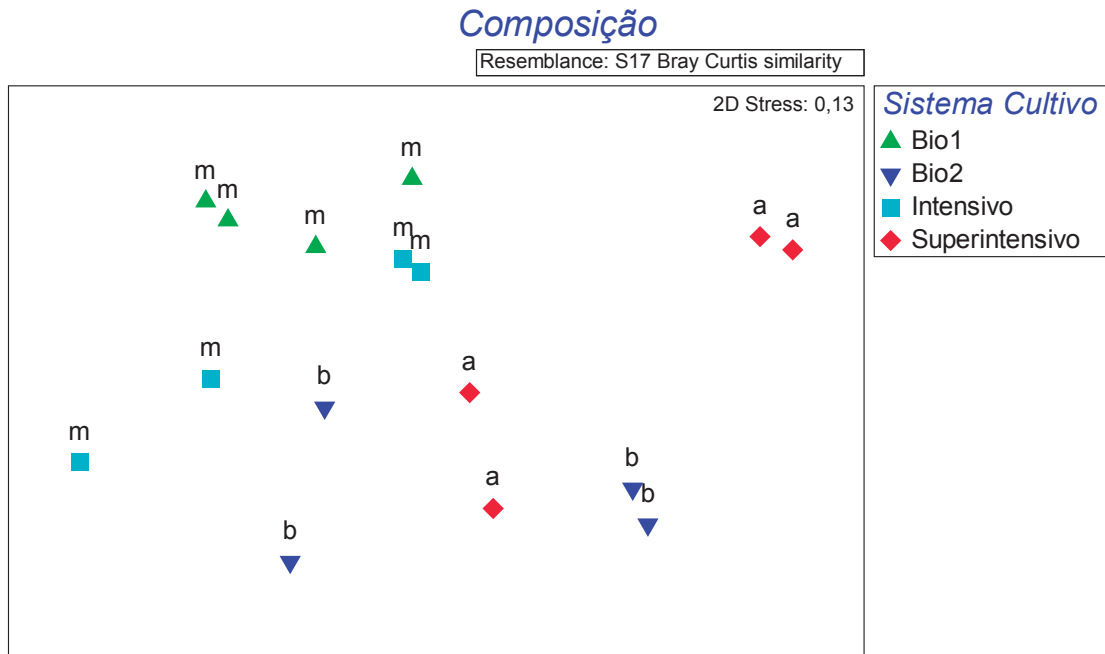
Esta análise tenta avaliar a abundância espacial no “ponto gordo” de 120 x 120 m (para pitfall) e 760 x 760 m (para copas), ou seja, a uma escala de distâncias físicas intermédia, maior que a de linha e entrelinha.

A análise ANOSIM baseou-se na comparação dos dados observados com permutações aleatórias dos mesmos. Foram geradas 999 a partir destas permutações.

### **Comunidade em pitfall**

Foi efectuado um ANOSIM para os seguintes factores (Figura 21):

Um ANOSIM por anos, Global  $R=-0,132$ ;  $P=0,98$ , verifica-se que não há diferenças significativas entre as composições dos dois anos; por densidade de árvores, Global  $R=0,572$ ;  $P=0,0004$ , onde o nível de densidade baixo (b) não é distinto do nível alto (a); os outros pairwise tests são todos significativos: tanto o nível baixo como o nível alto são distintos do nível médio; por sistema de cultivo. Global  $R=0,569$ ;  $P=0,0001$ , onde os sistemas de cultivo, comparados dois a dois, são todos distintos, salvo Bio2 vs. Superintensivo; por regadio (sim/não) indicando que não há diferenças estatísticas, embora se aproxime entre os oliveais regados e os que não são regados (Global  $R=0,23$ ;  $P=0,067$ ).

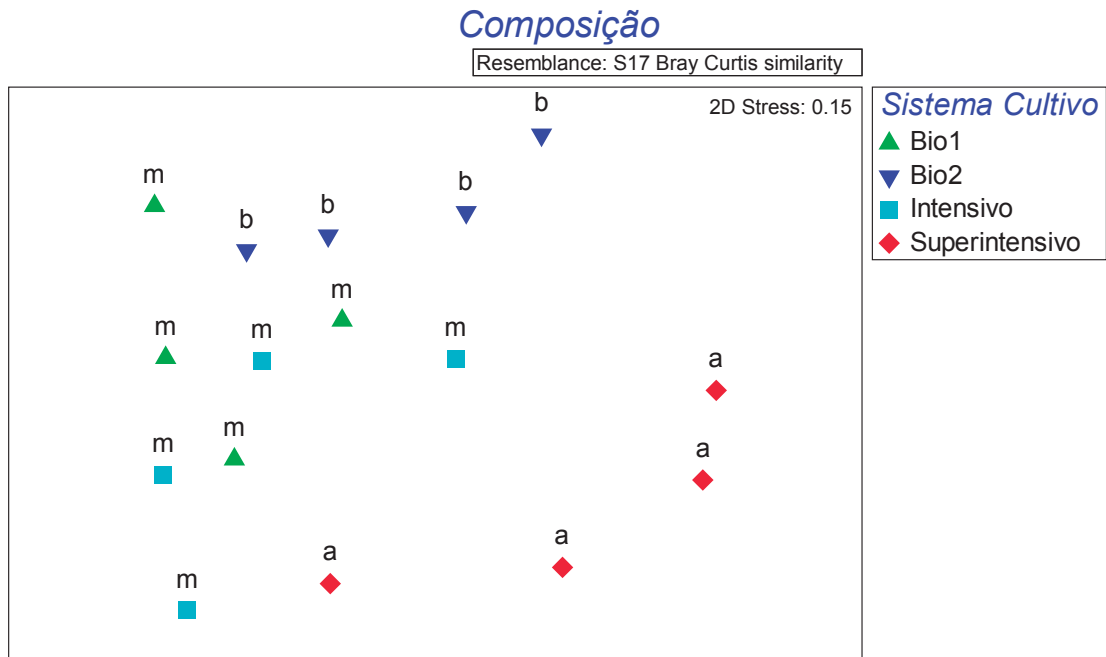


**Figura 21** - NMDS da comunidade de formigas amostradas nas pitfall (16 pitfall/olival) dos oito oliveiras (x2 anos/olival) agrupados segundo o sistema de cultivo (4 tipos) e a densidade (3 níveis: baixa (b), média (m) e alta (a)).

### Comunidade em copas

Foi efectuado um ANOSIM para os seguintes factores (Figura 22):

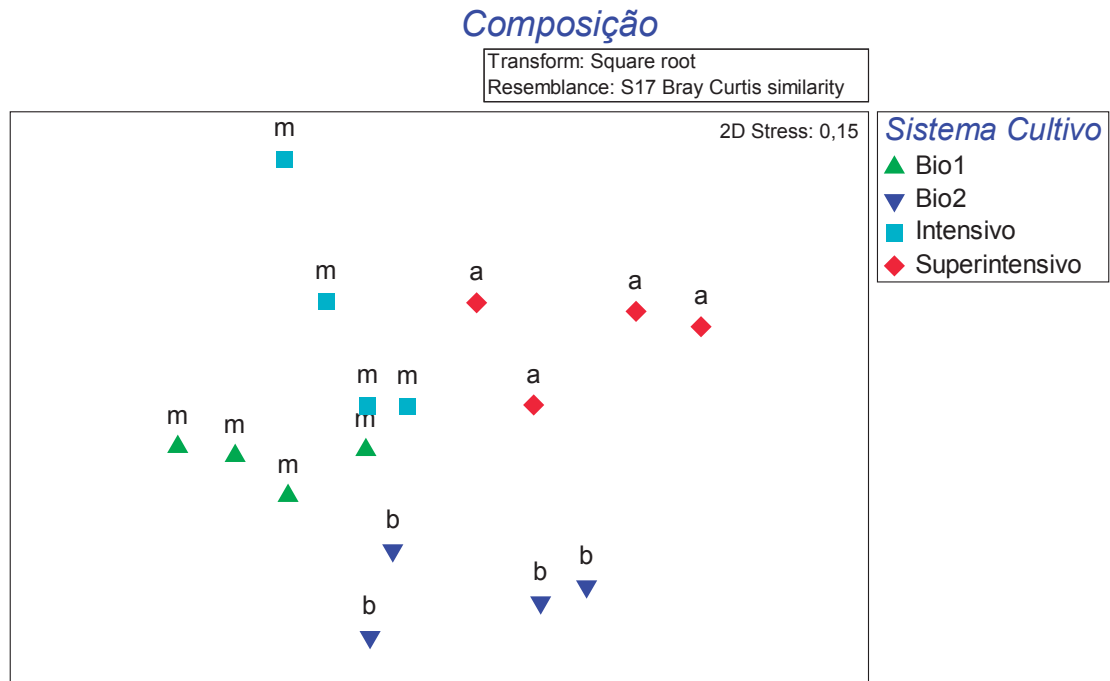
Primeiro foram comparados os dois anos, realizou-se um ANOSIM por anos, Global  $R = -0,036$ ;  $P = 0,62$ , onde se verificou que não existem diferenças entre as composições dos dois anos; por densidade. Global  $R = 0,562$ ;  $P < 0,001$ , observando-se que os três níveis de densidade são distintos entre si; por sistema de cultivo. Global  $R = 0,484$ ;  $P < 0,001$ , onde os sistemas de cultivo são distintos entre si menos, o Bio 1 com o Intensivo; por regadio (sim/não) indicando que não são distintos. Global  $R = 0,146$ ;  $P = 0,12$ .



**Figura 22** - NMDS da comunidade de formigas amostradas nas copas (20 pitfall/oliveira) dos oito oliveiros (x2 anos/oliveira) agrupados segundo o sistema de cultivo (4 tipos) e a densidade (3 níveis: baixa (b), média (m) e alta (a)).

### Comunidade em pitfall e copas

Quando se consideram os dados de pitfall e copas em conjunto, o factor ano e o factor regadio não resulta em diferenças estatísticas significativas relativamente à composição das comunidades de formigas. Um ANOSIM por densidade. Global  $R=0,64$ ;  $P<0,001$ , diz que os três níveis de densidade são distintos entre si e por sistema de cultivo. Global  $R=0,24$ ;  $P<0,002$ , os testes feitos dois a dois indicam que o sistema Intensivo não se diferencia dos outros três sistemas. Por sua vez, estes três, entre si, são todos distintos ( $P<0,03$ ) (Figura 23).



**Figura 23** - NMDS da comunidade de formigas amostradas nas pitfall (16 pitfall/olival) e nas copas (20 pitfall/olival) dos oito olivais (x2 anos/olival) agrupados segundo o sistema de cultivo (4 tipos) e a densidade (3 níveis: baixa (b), media (m) e alta (a)).



## 6.6 Índices de diversidade

Para cada olival e ano, o conjunto completo de pitfall ( $n = 16$ ) ou de copa ( $n = 20$ ) foram utilizados para estimar a diversidade, os índices de Fisher's  $\alpha$ , de Shannon-Wiener e de Simpson's com o programa EstimateS v 8.2:

A análise unifactorial, ANOVA, foi então usada para explorar o efeito do ano (2011, 2012) e do sistema de cultivo (Bio1, Bio2, Intensivo, Superintensivo) sobre os índices de diversidade (Quadro 4).

**Quadro 4** – Média e desvio padrão de índices de diversidade de várias comunidades de formigas nos olivais em estudo. Valores de índices de copa e pitfall utilizando diferentes estimadores de diversidade para cada olival. Dois olivais (repetições) para cada sistema de cultivo

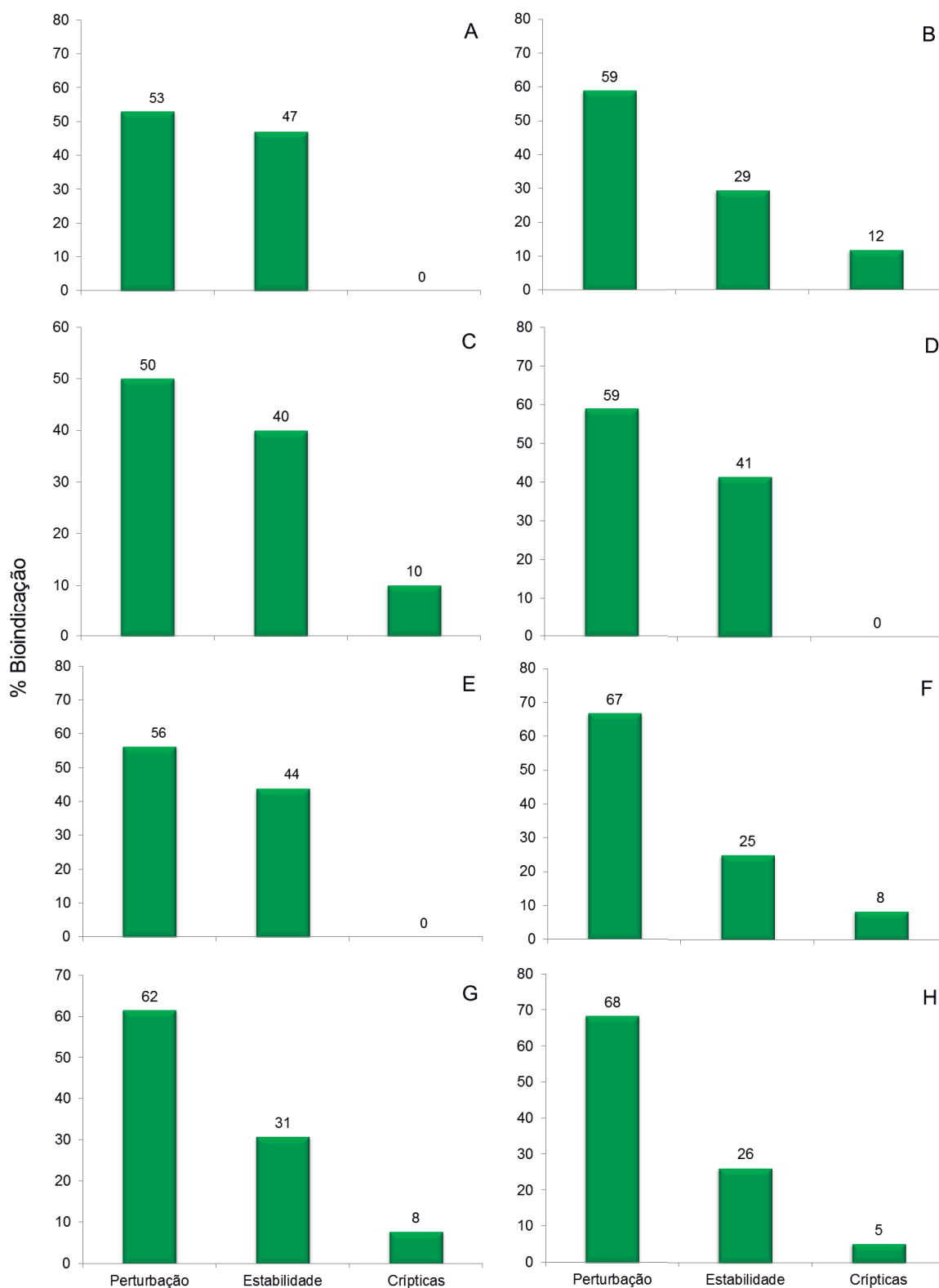
Sistema Cultivo	Fisher's -alfa-	Fisher's -alfa- Std.Err.	Shannon -Wiener-	Shannon -Wiener- Std.Err.	Simpson's	Simpson's Std.Err.
Bio 1	2,41	0,34	1,38	0,14	3,56	0,52
Bio 2	2,07	0,23	1,26	0,07	2,99	0,29
Intensivo	1,74	0,22	1,11	0,20	2,81	0,48
Superintensivo	1,80	0,21	1,13	0,15	2,74	0,40

Concluindo assim que, nem o ano, nem o sistema de cultivo apresentam um efeito significativo em todos os índices de diversidade de Fisher's, Shannon-Wiener e Simpson's, uma vez que não se verificam diferenças entre os valores dos índices para cada sistema de cultivo.

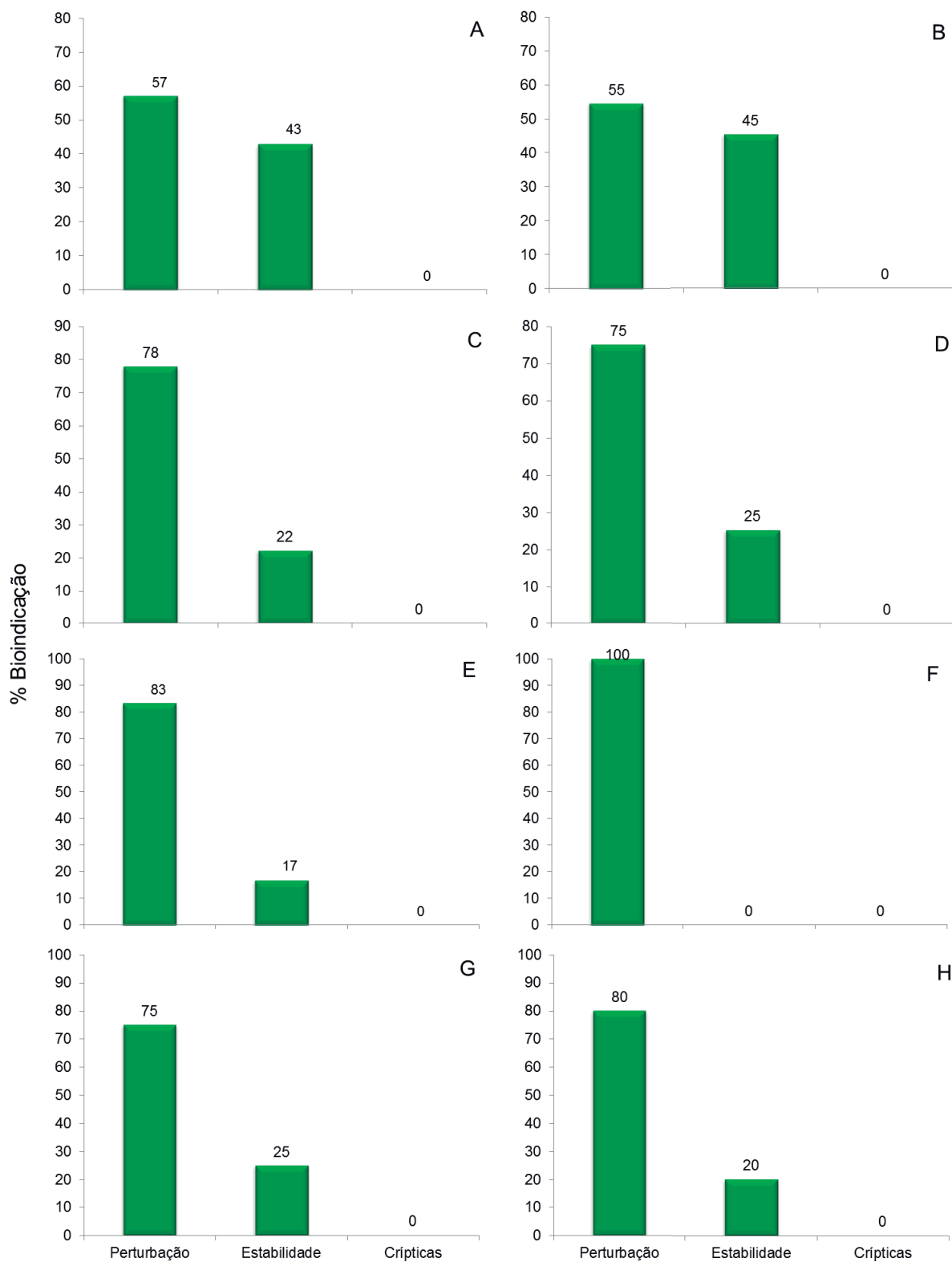
## 6.7 Grupos funcionais

Para a determinação do grau de perturbação dos oliveais, tendo em conta diferentes metodologias (armadilhas de queda e técnica das pancadas), aplicou-se a cada espécie encontrada, o grupo funcional correspondente. Seguidamente foram contabilizadas quantas espécies diferentes existiam, de acordo com o seu grupo funcional, a fim de calcular as percentagens de bioindicação.

Com isto, verificou-se que tanto no solo (Figura 24) como na copa (Figura 25), todos os oliveais apresentam um grau de perturbação superior a 50%.



**Figura 24** - Indicadores do estado de perturbação de acordo com os grupos funcionais, em pitfall (A – Biológico Serpa; B – Biológico Póvoa; C – Biológico Moura 1; D – Biológico Moura 2; E – Intensivo Neves; F – Intensivo Serpa; G – Superintensivo Serpa; H – Superintensivo Moura).



**Figura 25** - Indicadores do estado de perturbação de acordo com os grupos funcionais, em copas (A – Biológico Serpa; B – Biológico Póvoa; C – Biológico Moura 1; D – Biológico Moura 2; E – Intensivo Neves; F – Intensivo Serpa; G – Superintensivo Serpa; H – Superintensivo Moura).

## 7. Discussão

Ao longo deste estudo foi capturado um total de 42864 indivíduos, entre copas e pitfall, dos quais 20564 estavam presentes nos olivais biológicos regados (Biológico Serpa e Biológico Póvoa), 9618 nos olivais biológicos de sequeiro (Biológico Moura 1 e Biológico Moura 2), 8441 nos intensivos (Intensivo Neves e Intensivo Serpa) e 4241 nos superintensivos (Superintensivo Serpa e Superintensivo Moura). Este facto pode ser explicado devido aos hábitos alimentares, uma vez que, a grande maioria das espécies encontradas necessitam de vegetação, quer seja para a recolha de sementes, frutos ou outros produtos. Um elevado número de espécies alimenta-se de exsudados de afídeos que também necessitam, obrigatoriamente, da vegetação para se alimentarem (Collingwood e Prince, 1998).

Os espécimes identificados distribuem-se por 16 géneros e 34 espécies: *Aphaenogaster* (2), *Camponotus* (6), *Cardiocondyla* (1), *Cataglyphis* (3), *Crematogaster* (3), *Formica* (2), *Goniomma* (1), *Hypoponera* (1), *Lasius* (2), *Messor* (2), *Pheidole* (1), *Plagiolepis* (2), *Solenopsis* (1), *Tapinoma* (3), *Tetramorium* (3) e *Temnothorax* (1), pertencentes às subfamílias Dolichoderinae, Formicinae, Myrmicinae e Ponerinae.

Dessas 34 espécies, todas presentes no solo, apenas 19 foram capturadas na copa (Quadro 2), no conjunto dos dois anos (2011 e 2012).

Com isto temos as espécies *Crematogaster scutellaris* (23%), *Tapinoma nigerrimum* (22%), *Plagiolepis schmitzii* (18%) e *Crematogaster auberti* (15%) como as mais abundantes na copa. Esta elevada abundância da espécie *Crematogaster scutellaris* na copa, pode dever-se ao facto de, segundo Redolfi *et al.* (1999), de acordo com o comportamento biológico, esta espécie está inserida no grupo de espécies que constroem formigueiros nas árvores e procuram (em grupo) alimento na sua copa.

Contrariamente ao sucedido no solo, as espécies que apresentam uma maior abundância são *Pheidole pallidula* (31%), *Messor barbarus* (26%), *Aphaenogaster senilis* (16%) e *Tapinoma nigerrimum* (11%). Estas percentagens relativamente por exemplo à espécie *Messor barbarus*, esta é uma espécie que constrói os ninhos em espaços abertos e cujos indivíduos não sobem às oliveiras (Redolfi *et al.* 1999).

Em termos de abundância, esta observa-se maior no solo comparativamente à copa. Sendo que, relativamente ao solo verifica-se um gradiente quando comparando sistemas de cultivo,

havendo assim uma maior abundância no sistema Bio 1, seguido Bio 2, depois Intensivo e por fim Superintensivo, ou seja o sistema de cultivo afecta significativamente a abundância. O mesmo se verifica quando se analisa a abundância entre linhas e entrelinhas, havendo uma maior abundância de formigas nas armadilhas localizadas nas linhas em comparação com as situadas nas entrelinhas. O efeito da densidade sobre a abundância foi significativo, sendo esta mais elevada em 2011 e mais baixa em 2012. Por outro lado, quando falamos nas amostragens referentes à copa, observa-se que o factor sistema de cultivo afecta significativamente a abundância de formigas, embora seja nos olivais mais antigos, que estão inseridos no Bio 2, onde esta é mais elevada, não havendo grandes diferenças nos outros entre si. Quanto à densidade, nos olivais em que esta é baixa, a abundância é mais elevada, quando comparada com os outros dois níveis de densidade (médio e alto). Relativamente ao ano, este afecta a abundância, sendo maior em 2012.

Em termos de riqueza, os olivais Biológico Póvoa e Biológico Moura 1, são os que apresentaram um maior número de espécies (Quadro 2), com 21 espécies cada. Tanto o sistema de cultivo como a localização afectam significativamente a riqueza de espécies, sendo os sistemas Bio 2 e Intensivo semelhantes entre si, contrariamente aos sistemas Bio 1 e Superintensivo que são distintos entre si, e dos outros dois. Relativamente à densidade todos os níveis apresentam diferenças, mostrando o ano diferenças entre si. Por outro lado, na copa o sistema de cultivo Bio 2 é o que apresenta maiores diferenças comparativamente aos outros três.

Quanto à composição das comunidades, esta é diferenciada pelo sistema de cultivo em pitfall, o que não acontece quando nos referimos à amostragem em copas. Contudo, a densidade afecta mais significativamente, no que diz respeito à comunidade de espécies, embora só haja significância entre o nível médio e os outros dois, e quanto aos níveis baixo e alto, não haja diferenças, o que pode explicar-se pela pouca quantidade de repetições existente- Uma vez que tanto o regadio, como o ano de amostragem não afectam a comunidade de formigas, tanto em pitfall como nas copas.

Neste trabalho as espécies encontradas pertencem apenas a cinco grupos funcionais (GO, HCS/OH, CCS/SH, C, SP). De acordo com os grupos funcionais, tanto relativo às armadilhas de queda como à técnica das pancadas, todos os olivais apresentaram um elevado grau de perturbação, podendo isto dever-se ao grande número de espécies indicadoras de perturbação (Roig e Espadaler, 2010). Sendo que, os olivais que

apresentaram maior grau de perturbação nas pitfall, foram Intensivo Serpa e Superintensivo Moura (67% e 68%, respectivamente). Comparativamente às copas, quatro deles apresentam um grau de perturbação acima dos 75%, estando os dois olivais com regadio (Biológico Serpa e Biológico Póvoa) com 57% e 55%, respectivamente. Quando analisamos a estabilidade dos olivais, verificamos que, relativamente ao solo o que apresenta maior estabilidade é o Biológico Serpa (47%), contrariamente à copa que para além do Biológico Serpa, temos também o Biológico Póvoa, com 43% e 45%, respectivamente. O Olival Intensivo Serpa é o que apresenta menor estabilidade, tanto no solo como na copa (Patanita *et al.*, 2012).

## 8. Substantial, and significant, expansion of ant hosts range for - *Myrmicinosporidium* Hölldobler, 1933 (Fungi)

C. Gonçalves, I. Patanita, X. Espadaler

Received: 17 February 2012 / Revised: 16 March 2012 / Accepted: 20 March 2012

International Union for the Study of Social Insects (IUSSI) 2012

Published online in Insectes Sociaux (2012)

### Abstract

Six new genera, three tribes and one subfamily are added to the list of known hosts for the enigmatic endoparasitic fungus *Myrmicinosporidium* Hölldobler. *Aphaenogaster senilis*, *Cataglyphis hispanica*, *Crematogaster auberti*, *Goniomma hispanicum*, *Messor barbarus*, *Tapinoma nigerrimum* and *Tapinoma simrothi* were collected from olive groves and detected as infected with spores of the fungus. *Pheidole pallidula* and *Tetramorium semilaeve* were also found to be infected. The finding of seven hosts (seven genera, three subfamilies) from a single olive grove is an evidence that the fungus has a phylogenetically wide host spectrum and is, therefore, a generalist microparasite. Portugal is also a new country for *Myrmicinosporidium*.

**Keywords:** Endoparasitic fungus, Olive grove, Portugal, Dolichoderinae, New hosts

### 8.1 Introduction

Schmid-Hempel (1998) noted a general lack of data of parasites and diseases in social insects. This is being currently addressed at theoretical level (Boomsma *et al.* 2005; Cremer *et al.*, 2007) and supported with field data and experiments (Ugelvig and Cremer, 2007; Ugelvig *et al.*, 2010; Reber and Chapuisat, 2011). A recent review of Holarctic entomoparasitic fungi on ants (Espadaler and Santamaria, 2012) also covered briefly an endoparasitic fungus, *Myrmicinosporidium*. However, subsequent work revealed an enormous extension of the host range of this fungus. A study of ants collected in pitfall traps in olive groves from Portugal showed new data that already rendered the previous study out of date. The subject is an enigmatic endoparasitic fungus, *Myrmicinosporidium durum* Hölldobler, whose lifecycle is only partly known (Sánchez-Peña *et al.*, 1993) and that seems

to be infrequently detected (Buschinger *et al.*, 2004). The spores (diameter 47–61  $\mu\text{m}$ ) show a highly characteristic concave shape that is an artefact of alcohol fixation (Buschinger and Winter 1983); otherwise they are biconvex. Ant workers, queens and males may be infected, although behaviour seems to be only slightly impaired: infected workers are usually captured in pitfall traps, thus, foraging. Infected queens have also been captured in swarming (Buschinger *et al.*, 2004). Those fungi seem to be close to Chytridiomycetes (Sánchez-Peña *et al.*, 1993), although it remains to be studied where they belong within the fungi phylogeny.

We upgrade the previous knowledge with six new genera, three tribes, and one subfamily, which are added here to the list of known ant hosts. The fungus is also new for Portugal.

## **8.2 Materials and methods**

For a wider project seeking to explore the usefulness of arthropods as tools for assessing the impact of agricultural practices, pitfall traps were used to characterize the ant assemblages of olive groves subjected to different management schemes. The study was carried out in Baixo Alentejo, Portugal in eight olive groves using intensive organic (O;  $n = 4$ ) low density (LD;  $n = 2$ ) and intensive high density (HD;  $n = 2$ ) management systems (**Table 1**). Sixteen pitfall traps per olive grove, opened 1 week per month, for 3 months (June, September, November), were used to characterize the ant assemblages of olive groves subjected to the three different management schemes. The large olive groves are surrounded by a matrix of arable land and *Quercus* forest fragments. The climate is continental Mediterranean, with 605 mm of annual rainfall. Mean monthly temperatures reach a high of 32.3 °C in July and a low of 5.4 °C in January.



**Table 1** Characteristics of studied olive groves ( $n = 8$ ) from Baixo Alentejo (Portugal).

Distribution of ants captured and ants infected with spores of *Myrmicinosporidium*. See text for specific information. *Samples analyzed* 16 pitfall traps x 3 months/field x 8 fields = 384 samples *LD* low density, *HD* high density

Management system	Irrigation	Pitfall traps with infected ants (from 48 per field)	Ants captured in all traps	Ants captured from traps with infected ants	Ants infected
Organic	Yes	1	83	18	3
Organic	Yes	5	139	94	40
Organic	No	0	260	0	0
Organic	No	9	180	139	35
LD	Yes	0	300	0	0
LD	Yes	0	287	0	0
HD	Yes	0	620	0	0
HD	Yes	1	231	2	1

Ants were identified under a dissection microscope with a cold light source, using standard references (Collingwood and Prince, 1998; Seifert, 1992) and compared with our own collections. During the identification process, spores of the fungus *Myrmicinosporidium* were immediately detected in the first sample, which contained *Tetramorium semilaeve* (André) and *Messor barbarus* (Linnaeus). Spores were directly seen inside the legs and the distended gaster of the yellowish *Tetramorium* and also in the extremely dark gaster of the otherwise normally coloured *Messor*. After this discovery, the gaster of all specimens from species with dark cuticles was punched with forceps. If infected, spores appeared immediately out of the gaster. Light yellow coloured ants were directly inspected for spores. Samples are preserved at the Polytechnic Institute of Beja.

### 8.3 Results

*Myrmicinosporidium* infected workers were detected in 4 out of 8 olive groves, and in 16 samples out of 384. Those samples comprised 2,093 workers of which 79 had spores of the fungus (**Table 2**). Spores were detected only in June samples (8.VI.2011, leg. C. Gonçalves). No spores were detected in the ants captured in September ( $n = 1,423$  workers) and November ( $n = 1,431$  workers) using a similar trapping scheme. Prevalence in June: 3.7 % for total data, with much variability for each species. It is

disputable whether specific prevalence should be defined as a percentage of infected ants within a trap or within a field. Further, we refrained from exploring this epidemiological characteristic.

**Table 2** Ant species infected with *Myrmicinosporidium* spores, localities and number of infected workers, traps with infected workers and total number of workers captured in pitfall traps set at olive groves of Baixo Alentejo (Portugal)

Ant species	Locality	# workers infected	# traps with infected workers	# captured workers in 48 traps
<i>Aphaenogaster senilis</i> Mayr <sup>a</sup>	Póvoa de São Miguel	8	4	12
	Moura	10	4	46
<i>Cataglyphis hispanica</i> (Emery) <sup>a</sup>	Póvoa de São Miguel	1	1	21
<i>Crematogaster auberti</i> Emery <sup>a</sup>	Póvoa de São Miguel	3	3	4
<i>Goniomma hispanicum</i> (André) <sup>a</sup>	Moura	1	1	1
<i>Messor barbarus</i> (Linnaeus) <sup>a</sup>	Serpa	1	1	15
	Póvoa de São Miguel	6	1	6
	Moura	16	6	44
<i>Tapinoma nigerrimum</i> (Nylander) <sup>a</sup>	Moura	9	4	50
<i>Tapinoma simrothi</i> Krausse <sup>a</sup>	Póvoa de São Miguel	6	3	34
<i>Tetramorium semilaeve</i> (André)	Serpa	2	1	3
	Póvoa de São Miguel	9	4	9
<i>Pheidole pallidula</i> (Nylander)	Póvoa de São Miguel	7	3	8

\*New host

Other species captured in the olive groves, but not detected as infected: *Camponotus pilicornis* Roger, *Camponotus foreli* Emery, *Camponotus micans* (Nylander), *Camponotus sylvaticus* (Olivier), *Camponotus lateralis* (Olivier), *Camponotus cruentatus* (Latreille), *Cardiocondyla batesii* Forel, *Crematogaster scutellaris* (Olivier), *Crematogaster sordidula* (Nylander), *Formica cunicularia* Latreille, *Formica subrufa* Roger, *Hypoponera eduardi* (Forel), *Lasius lasioides* (Emery), *Lasius grandis* Forel, *Plagiolepis pygmaea* (Latreille), *Plagiolepis schmitzii* Forel, *Tapinoma madeirense* Forel, *Tetramorium forte* Forel, *Solenopsis* sp.

## 8.4 Discussion

The seven new hosts noted here raise the number of known hosts to 35 species, belonging to 16 genera and 10 tribes (**Table 3**). A new subfamily, Dolichoderinae, is added to the

Formicinae and Myrmicinae as subfamilies, where *Myrmicinosporidium* has been detected. Therefore, up to now only the formicoid clade (Moreau *et al.*, 2006; Brady *et al.*, 2006) contains examples of infected ants. Feeding habits of the newly detected infected ants are highly variable: from granivores (*Messor*, *Goniomma*) to scavengers (*Cataglyphis*), mainly nectarivores (*Crematogaster*) and omnivores (*Aphaenogaster*, *Tapinoma*). Thus, the distinct methods of acquisition and composition of the different foods implied in these varied feeding regimes do not seem to be crucial in the cycle of the fungus, suggesting that neither food nor feeding habits are characteristic to the infection process. At present, no arboricolous ants have been found to be infected.

**Table 3** Ant species hosts (35) known for *Myrmicinosporidium* Hölldobler (January 2012)

SF	Tr	Species	Country	Reference
F	For	<i>Cataglyphis hispanica</i> (Emery)	Portugal	This work
F	Pl	<i>Nylanderia vividula</i> (Nylander)	USA	10
F	Pl	<i>Plagiolepis pygmaea</i> (Latreille)	Croatia; Italy; Spain	11; 5
F	Pl	<i>Plagiolepis vindobonensis</i> Lomnicki	Austria	11
F	Pl	<i>Plagiolepis taurica</i> Santschi	Hungary	9
M	Ph	<i>Aphaenogaster senilis</i> Mayr	Portugal	This work
M	Fo	<i>Chalepoxenus muellerianus</i> (Finzi)	Italy	11
M	Cr	<i>Crematogaster auberti</i> Emery	Portugal	This work
M	Ph	<i>Goniomma hispanicum</i> (André)	Portugal	This work
M	Ph	<i>Messor barbarus</i> (Linnaeus)	Portugal	This work
M	Ph	<i>Pheidole bicarinata</i> Mayr	USA	10
M	Ph	<i>Pheidole pallidula</i> (Nylander)	France; Spain	3; 5
M	Ph	<i>Pheidole tysoni</i> Forel	USA	10
M	Ph	<i>Pheidole williamsi</i> Wheeler	Ecuador	4
M	My	<i>Pogonomyrmex badius</i> (Latreille)	USA	10
M	My	<i>Pogonomyrmex barbatus</i> (F. Smith)	USA	11
M	Da	<i>Pyramica membranifera</i> (Emery)	USA	10
M	Fo	<i>Temnothorax affinis</i> (Mayr)	Croatia	2
M	Fo	<i>Temnothorax albipennis</i> (Curtis)	Italy	11
M	Fo	<i>Temnothorax angustulus</i> (Nylander)	Italy	11
M	Fo	<i>Temnothorax exilis</i> (Emery)	Italy	11
M	Fo	<i>Temnothorax lichtensteini</i> Bondroit	Spain	3
M	Fo	<i>Temnothorax nylanderi</i> (Förster)	Italy	11
M	Fo	<i>Temnothorax racovitzai</i> Bondroit	Spain; Italy	3; 11
M	Fo	<i>Temnothorax recedens</i> (Nylander)	Croatia; France	11; 2
M	Fo	<i>Temnothorax tuberosum</i> (Fabricius)	Germany	8
M	Fo	<i>Temnothorax unifasciatus</i> (Latreille)	Croatia; France; Switzerland, Italy	11; 2; 1
M	Te	<i>Tetramorium caespitum</i> (Linnaeus)	Hungary	9
M	Te	<i>Tetramorium semilaeve</i> (André)	Spain	5
M	So	<i>Solenopsis carolinensis</i> Forel	USA	10
M	So	<i>Solenopsis fugax</i> (Latreille)	France; Germany; Hungary; Spain; Switzerland	3; 6; 7; 9; 5; 2
M	So	<i>Solenopsis invicta</i> Buren	USA	10
M	Te	<i>Strongylognathus caeciliae</i> Forel	Spain	5
D	Ta	<i>Tapinoma nigerrimum</i> (Nylander)	Portugal	This work
D	Ta	<i>Tapinoma simrothi</i> Krausse	Portugal	This work

Subfamily and Tribe follow Bolton (2003). The bold font denotes new subfamily, tribe or host *SF* subfamily, *Tr* tribe, *For* Formicini, *Pl* Plagiolepidini, *Ph* Pheidolini, *Fo* Formicoxenini, *Cr* Crematogastrini, *My* Myrmicini, *Te* Tetramoriini, *So* Solenopsidini, *Ta* Tapinomini.

References: 1, Buschinger *et al.* (2004); 2, Buschinger and Winter (1983); 3, Espadaler (1982); 4, Espadaler (1997); 5, García and Espadaler (2010); 6, Hölldobler (1927); 7, Hölldobler (1929); 8, Hölldobler (1933); 9, Kanizsai (2010); 10, Pereira (2004); 11, Sánchez-Peña *et al.* (1993).

As all specimens were collected in pitfall traps, we assume that workers were foraging seemingly unaffected. Selection against virulence should be particularly strong in ants, where most transmission events will be within the colony (Boomsma *et al.*, 2005). Little is known about the biology and specificity of *Myrmicinosporidium*. Its presence in the Palearctic, the Nearctic and the Southern hemisphere, and differences in spore size (Pereira, 2004) allowed speculation regarding the conspecificity of all *Myrmicinosporidium* populations. Espadaler and Santamaria (2012) expressed doubts over the conspecificity of all cases of *Myrmicinosporidium*, because of the wide phylogenetic range of host species. Now, with the new data revealed here, those doubts seem to be premature. Instead, we now believe that the detection within the small physical limits of one Portuguese olive grove (Póvoa de São Miguel) of seven hosts, belonging to seven genera, from five tribes, and three subfamilies argues against possible specific differentiation of *Myrmicinosporidium* on different hosts. A similar situation was already noted within the limits of an organic citrus grove in Spain (Espadaler and Santamaria, 2012), where four genera belonging to four tribes from two subfamilies were found to be parasitized with *Myrmicinosporidium*. This supports the hypothesis that *Myrmicinosporidium* is indeed a single gene pool, a generalist microparasite, and not a mixture of differentiated host lineages. Finally, it is worth mentioning that these two sites are under organic management. This is an agricultural method that promotes abundance and diversity of soil fungi (Hole *et al.*, 2005; Birkhofer *et al.*, 2008). Of course, we accept that these two sites (one in Portugal, one in Spain) do not offer a high number of replicates and our argument is merely a suggestion that the soil conditions created by organic management may promote the presence of *Myrmicinosporidium* infected ants. Experimental rearing of the fungus through cross-feeding controlled colonies, as performed by Buschinger and Kleespies (1999) with the neogregarine *Mattesia geminata* Jouvenaz and Anthony, and molecular studies, are required to clarify the phylogenetic position of *Myrmicinosporidium*. Only a genetic analysis will allow to determine whether the different host ant species are infected by same clones or different strains or maybe even cryptic species of the fungus.

## 8.5 References

- Birkhofer K., Martijn Bezemer T., Bloem J., Bonkowski M., Christensen S., Dubois D., Ekelund F., Fließbach A., Gunst L., Hedlund K., Mañder P., Mikola J., Robin C., Setaïla H., Tatin-Froux F., Van der Putten W.H. and Scheu S. 2008. Long-term organic farming fosters below and aboveground biota: Implications for soil quality, biological control and productivity. *Soil Biol. Biochem.* **40**: 2297-2308
- Bolton B. 2003. Synopsis and classification of Formicidae. *Mem. Am. Entomol. Inst.* **71**: 1-370
- Boomsma J.J., Schmid-Hempel P. and Hughes W.O.H. 2005. Life histories and parasite pressure across the major groups of social insects. In: *Insect Evolutionary History* (Fellowes M.D.E., Holloway G.J. and Rolff J., Eds), Royal Entomological Society, pp 139-175
- Brady S.G., Schultz T.R. and Fisher B.L. 2006. Evaluating alternative hypotheses for the early evolution and diversification of ants. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* **103**: 18172-18177
- Buschinger A., Beibl J., D'Ettorre P. and Ehrhardt W. 2004. Recent records of *Myrmicinosporidium durum* Hölldobler, 1933, a fungal parasite of ants, with first record North of the Alps after 70 years. *Myrmecol. Nachr.* **6**: 9-12
- Buschinger A. and Kleespies R.G. 1999. Host range and host specificity of an ant-pathogenic gregarine parasite, *Mattesia geminata* (Neogregarinida: Lipotrophidae). *Entomol Gen.* **24**: 93-104
- Buschinger A. and Winter U. 1983. *Myrmicinosporidium durum* Hölldobler 1933, Parasit bei Ameisen (Hym., Formicidae) in Frankreich, der Schweiz und Jugoslawien wieder aufgefunden. *Zool. Anz.* **210**: 393-398
- Collingwood C.A. and Prince A. 1998. A guide to ants of continental Portugal (Hymenoptera: Formicidae). *Bol. Soc. Port. Entomol., Supl.* **5**: 1-49
- Cremer S., Armitage S.A.O. and Schmid-Hempel P. 2007. Social immunity. *Curr. Biol.* **17**: R693-R702

- Espadaler X. 1982. *Myrmicinosporidium* sp., parasite interne des fourmis. Etude au MEB de la structure externe. In: *La Communication chez les Sociétés d'Insectes* (De Haro A. and Espadaler X., Eds). Coll. Int. U.I.E.I.S., Barcelona, pp 239-241
- Espadaler X. 1997. *Pheidole williamsi* (Hymenoptera, Formicidae) parasitized by *Myrmicinosporidium durum* (Fungi) on San Salvador Island (Galápagos Islands). *Sociobiology* **30**: 99-101
- Espadaler X. and Santamaria S. 2012. Ecto - and endoparasitic fungi on ants from the Holarctic region. *Psyche* **2012 (168478)**: 1-10
- García F. and Espadaler X. 2010. Nuevos casos y hospedadores de *Myrmicinosporidium durum* Hölldobler, 1933 (Fungi). *Iberomyrmex* **2**: 3-9
- Hole D.G., Perkins A.J., Wilson J.D., Alexander I.H., Grice P.V. and Evans A.D. 2005. Does organic farming benefit biodiversity? *Biol. Conserv.* **122**: 113-130
- Hölldobler K. 1927. Über merkwürdige Parasiten von *Solenopsis fugax*. *Zool. Anz.* **70**: 333-334
- Hölldobler K. 1929. Über eine merkwürdige Parasitenerkrankung von *Solenopsis fugax*. *Z. Parasit.* **2**: 67-72
- Hölldobler K. 1933. Weitere Mitteilungen über Haplosporidien in Ameisen. *Z. Parasit.* **6**: 91-100
- Kanizsai O. 2010. *Myrmicinosporidium durum*, egy különös hangyapatogén. *Proc. 3rd Carpathian Basin Myrmecol. Symposium: 5, Senete, Romania*
- Moreau C.S., Bell C.D., Vila R., Archibald S.B. and Pierce N.E. 2006. Phylogeny of the ants: Diversification in the age of angiosperms. *Science* **312**: 101-104
- Pereira R.M. 2004. Occurrence of *Myrmicinosporidium durum* in red imported fire ant, *Solenopsis invicta* and other new ant hosts in eastern United States. *J. Inv. Pathol.* **84**: 38-44

- Reber A. and Chapuisat M. 2011. Diversity, prevalence and virulence of fungal entomopathogens in colonies of the ant *Formica selysi*. *Insect. Soc.* doi 10.1007/s00040-011-0209-3
- Sánchez-Peña S.R., Buschinger A. and Humber R.A. 1993. *Myrmicinosporidium durum*, an enigmatic fungal parasite of ants. *J. Inv. Pathol.* **61**: 90-96
- Schmid-Hempel P. 1998. *Parasites in Social Insects*. Princeton University Press, Princeton, NJ
- Seifert B. 1992. A taxonomic revision of the Palaearctic members of the ant subgenus *Lasius* s. str. (Hymenoptera: Formicidae). *Abh. Ber. Naturkundemus. Görlitz* **66**: 1-66
- Ugelvig L.V. and Cremer S. 2007. Social prophylaxis: group interaction promotes collective immunity in ant colonies. *Current Biology* **17**: 1967-1971
- Ugelvig L.V., Kronauer D.J.C., Schremp A., Heinze J. and Cremer S. 2010. Rapid anti-pathogen response in ant societies relies on high genetic diversity. *Proc. R. Soc. B* **277**: 2821-2828

## **Acknowledgments**

Comments by two reviewers added value to the manuscript. This study was financially supported by FEDER Funds through the Programa Operacional Factores de Competitividade—COMPETE and National Funds through the FCT—Fundação para a Ciência e Tecnologia, within project PTDC/AGR-PRO/111123/2009: The use of biological indicators as tools for assessing the impact of agricultural practices in the sustainability of olive groves. X.E. is currently supported by Ministerio de Ciencia y Tecnología MCYT/FEDER grant CGL2010-18182.




## 9. Comparação da comunidade de formigas entre oliveiras de diferentes regiões da Península Ibérica


Este capítulo baseia-se na comparação de dados publicados sobre formigas em oliveiras da Península Ibérica (Figura 26).




**Figura 26** – Mapa da Península Ibérica com as quatro regiões de estudo.


Aparentemente, só se efectuaram estudos em quatro regiões:

 **Alto Alentejo** – Rei, (2006). Neste trabalho, foram seleccionados dois oliveiras em modo de produção biológico (Biológico 1 e Biológico 2) e dois em modo convencional (Convencional 1 e Convencional 2), implantados na freguesia de Ervedal, concelho de Avis. Todos com idades compreendidas entre os 50 e 60 anos, e sem regadio.

 **Baixo Alentejo** – Os dados relativos ao **Baixo Alentejo** estão indicados ao longo do presente trabalho.



 **Granada** – Redolfi *et al.* (1999). e Redolfi *et al.* (2004). As amostragens realizaram-se em três olivais distintos (Arenales, Colomera 1 e Colomera 2), situados 20 km a norte da cidade de Granada. Estes três olivais diferenciam-se fundamentalmente pelas práticas agrícolas: Arenales – olival biológico, com regadio, cerca de 80 anos de idade e densidade de 54 árvores/ha; Colomera 1 – olival com aplicação de pesticidas, com regadio, cerca de 25 anos de idade e densidade de 51 árvores/ha; Colomera 2 – olival abandonado durante 10 anos, onde se retomou a actividade em julho de 1997, sem regadio, com cerca de 25 anos de idade e densidade de 51 árvores/ha.

 **Trás-os-Montes** – Santos *et al.* (2007) e Silva (2012). No trabalho realizado por Santos *et al.* (2007), a amostragem ocorreu num olival situado em Mirandela, com cerca de 80 anos, não regado e com densidade de 123 árvores/ha, instalado em modo de produção integrado. Por sua vez, em Silva (2012), a amostragem realizou-se em nove olivais de sequeiro, localizados também na região de Mirandela, sujeitos a diferentes tipos de gestão do solo: solo coberto por vegetação natural, solo coberto por leguminosas semeadas, controlo da vegetação herbácea efectuado por aplicação de herbicidas na linha de plantação e solo mobilizado. Destes olivais, dois apresentam o solo coberto por vegetação natural, um em Guribanes, olival em modo de produção biológico e outro em Cedães, olival em modo produção integrado. Em solo coberto por leguminosas semeadas encontram-se, Valbom e S. Pedro BIO, ambos em modo de produção biológico. Relativamente aos olivais em solos com controlo da vegetação herbácea efectuado por aplicação de herbicidas na linha de plantação, foram seleccionados três olivais, um em S. Pedro, outro em Suções e um último em Paradela. Por fim, ao solo mobilizado, correspondem dois olivais, um em modo produção biológico (Avantos BIO) e outro em modo de produção integrado (Avantos PRODI).

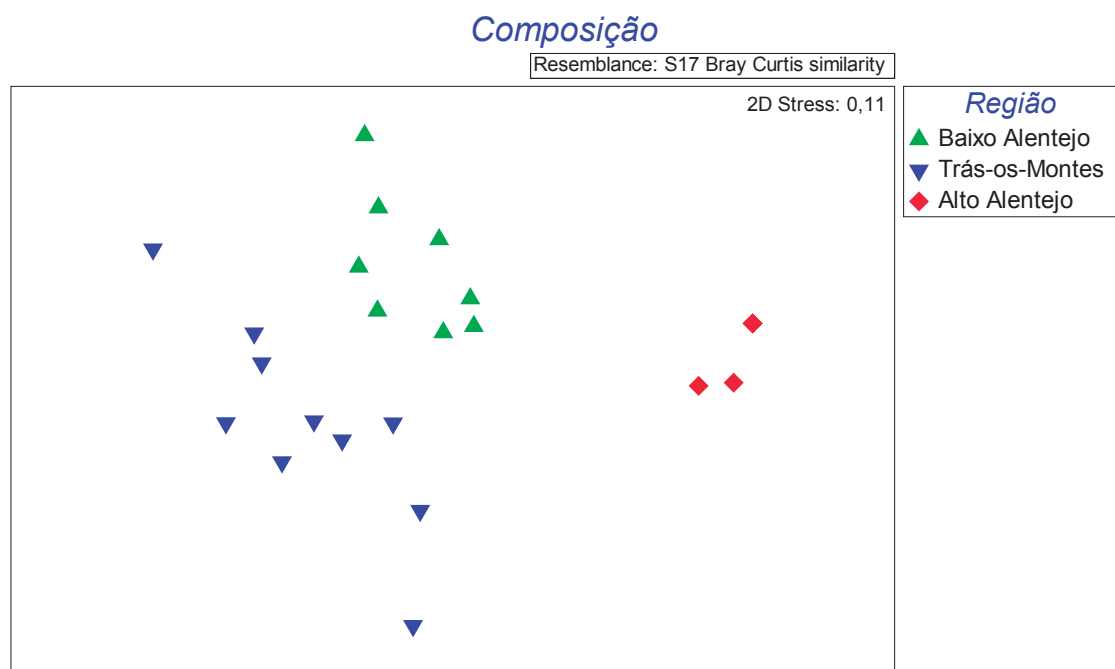
## **Resultados**

Primeiramente é de salientar que o esforço de amostragem e os habitats estudados (solo e copas) são desiguais, o qual desaconselha a realização de uma análise formal consistente. Para evitar dar maior peso aos sistemas amostrados mais intensamente, optou-se por usar apenas dados de presença/ausência. Um ANOSIM por regiões (4 níveis) indica que há diferenças estatísticas na composição (Global R = 0,78; P = 0,001), sendo as quatro regiões

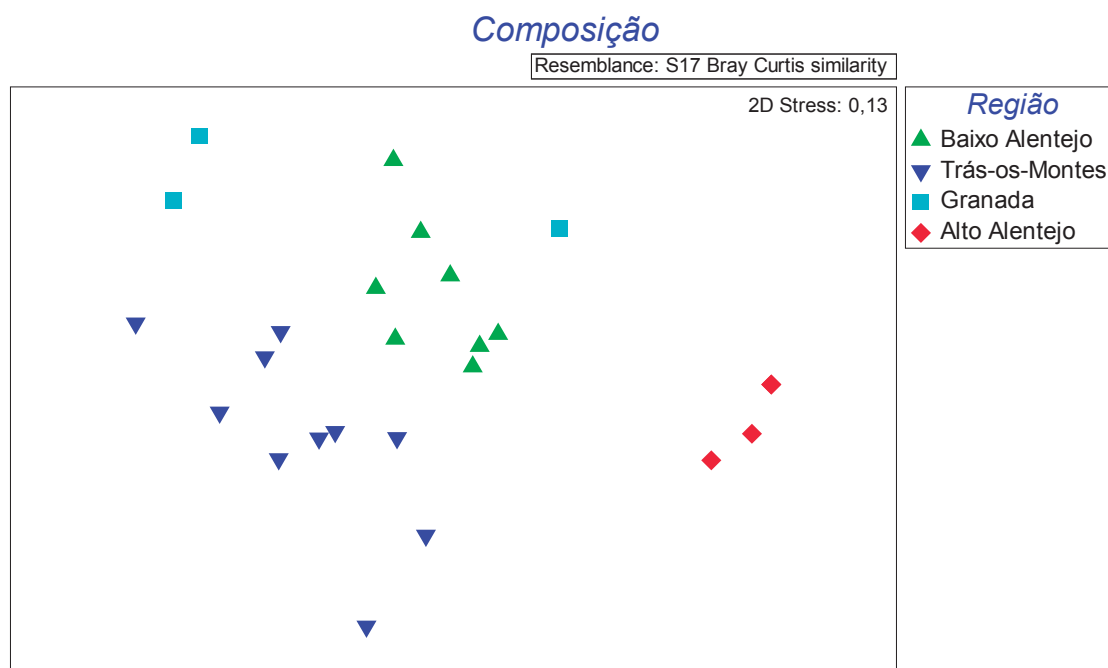
distintas entre si (pairwise test). O regadio não influencia significativamente a composição (Global R = 0,09; P = 0,14).

Uma representação NMDS destes dados (25 oliveiras), usando o índice de Bray-Curtis (que usando dados de presença/ausência equivale algebricamente ao coeficiente de Sørensen) (Figura 28 e Figura 28) mostra que as quatro regiões se mantêm relativamente bem separadas. Tanto a idade como a densidade e o regadio não afectam a composição (presença/ausência), o qual se pode deduzir directamente na disposição gráfica., onde os oliveiras de Trás-os-Montes compreendem diferentes idades e densidades. O mesmo se aplica às outras três regiões.

As análises anteriores, se se eliminam as espécies não identificadas especificamente, não variam em absoluto.



**Figura 27** - Representação NMDS das matrizes de similitudes (índice de Bray-Curtis com presença/ausência, que equivale ao índice de Sørensen) entre as formigas de 22 oliveiras de Portugal.



**Figura 28** - Representação NMDS das matrizes de similitudes (índice de Bray-Curtis com presença/ausência, que equivale ao índice de Sørensen) entre as formigas de 22 olivais de Portugal e 3 de Espanha.

**10. Primeiros registos das espécies *Strongylognathus caeciliae* Forel, 1897 e *Temnothorax tyndalei* (Forel, 1909) (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) em Portugal Continental**

Cláudia Gonçalves<sup>1</sup>, Xavier Espadaler<sup>2</sup>, José Alberto Pereira<sup>3</sup>, Sónia Santos<sup>3</sup> & Maria Isabel Patanita<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Politécnico de Beja, Escola Superior Agrária, Departamento de Biociências; 7800 Beja

<sup>2</sup> Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Biologia Animal, de Biologia Vegetal i d'Ecologia, 08193 Bellaterra

<sup>3</sup> Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária, Campus Sta Apolónia, Apt. 1172, 5301-855 Bragança

(submetido para publicação)

**Resumo**

Citadas pela primeira vez em Portugal Continental as espécies *Strongylognathus caeciliae* Forel, 1897 e *Temnothorax tyndalei* (Forel, 1909), foram capturadas na região do Baixo Alentejo, num estudo realizado nessa área.

**Palavras chave:** Formigas, Myrmicinae, *Strongylognathus*, *Temnothorax*

First record of *Strongylognathus caeciliae* Forel, 1897 and *Temnothorax tyndalei* (Forel, 1909) from the Continental Portugal (Hymenoptera: Formicidae).

**Abstract**

*Strongylognathus caeciliae* Forel, 1897 and *Temnothorax tyndalei* (Forel, 1909) are cited for the first time from the Continental Portugal. They were collected in olive groves in organic production located in the region of Baixo Alentejo, within the project “The use of biological indicators as tools for assessing the impact of agricultural practices in the sustainability of olive groves”. The check-list of ants in continental Portugal reaches 126 species.

**Keywords:** Ants, Myrmicinae, *Strongylognathus*, *Temnothorax*.

### **10.1 Introdução**

Este estudo, realizado pelo Instituto Politécnico de Beja, em parceria com o Instituto Politécnico de Bragança e a Universidade de Coimbra, está inserido no projecto “A utilização de indicadores biológicos como ferramentas para avaliar o impacto de práticas agrícolas na sustentabilidade do olival”, que consistiu em monitorizar oliveiras com vários sistemas de cultivo, com o objectivo de identificar espécies de artrópodes que podem ser usados como indicadores biológicos em oliveiras e avaliar a qualidade e sustentabilidade dos agro-ecossistemas. As amostragens ocorreram, em oito oliveiras situadas no distrito de Beja através da colocação de armadilhas de queda e com recurso também, à técnica das pancadas, durante os anos de 2011 e 2012, tendo sido apenas em 2012 que ocorreu o aparecimento destas duas novas espécies.

### **10.2 Material e métodos**

Neste caso, foram colocadas, em cada olival, 16 armadilhas de queda ( $\varnothing=115\text{mm}$ , altura 130mm), 8 armadilhas na linha (L) e 8 na entrelinha (E), em quatro filas alternadas na linha e entrelinha de plantação, distanciadas 45-50m entre si. Foi utilizado etilenoglicol puro diluído a 50%, como líquido de captura. As armadilhas permaneceram no campo durante sete noites, tendo sido colocadas na linha debaixo da copa da árvore a 50 cm da sapata ou tronco na orientação Sul e na entrelinha no centro de quatro árvores. Os espécimes colhidos foram mortos e conservados em etanol a 70%, em tubos de Eppendorf de 1,5 ml devidamente etiquetados.

O aparecimento destas novas espécies ocorreu apenas num dos oito oliveiras (olival B), este em modo de produção biológico localizado na Póvoa de São Miguel, concelho de Moura.

### **10.3 Resultados**

#### ***Strongylognathus caeciliae* (Forel, 1897)**

1 exemplar - 1 ♀ etiquetado: 29.x.2012, Olival B, Armadilha E2 (38°12'52.87"N 7°18'53.88"W). Póvoa de São Miguel, Baixo Alentejo. Olival em modo de produção biológico e com regadio, com densidade média de árvores (235 árvores/ha) e árvores de 6 anos de idade (em 2012).

É uma espécie esclavagista sobre *Tetramorium semilaeve* André, 1883, espécie presente no mesmo olival. A captura de uma rainha, isolada e numa armadilha de queda, não implica necessariamente que nidifique na parcela em questão. É necessário uma busca focalizada, nos ninhos dos hospedeiros, para confirmar a sua presença física nesse local. Esta espécie está distribuída maioritariamente no sul da península (García & Espadaler, 2010; Gómez & Espadaler, 2007; Tinaut *et al.* 2005).

#### ***Temnothorax tyndalei* (Forel, 1909)**

9 exemplares - 6 obreiras, 1 ♀ e 1 ♂ etiquetados: 26.iv.2012, Olival B, Armadilha L7 (38°12'53.24"N 7°18'52.32"W); 1 obreira etiquetado: 26.iv.2012, Olival B, Armadilha E7 (38°12'53.87"N 7°18'50.67"W). Póvoa de São Miguel, Baixo Alentejo. Mesmas condições ecológicas que para *S. caeciliae*.

A sua distribuição ibérica não segue, aparentemente, um padrão definido (Gómez & Espadaler, 2007). Nidifica no solo, e não se conhece a sua biologia.

Baseado no excelente catálogo de Salgueiro (2002), com a recente adição da exótica *Nylanderia jaegerskioeldi* (Mayr, 1904) por Obregón & Reyes (2012), e segundo Boieiro *et al.* (2009), a check-list de formigas em Portugal continental alcança as 126 espécies.

### **10.4 Bibliografia**

- BOIEIRO, M., ESPADALER, X., RITA AZEDO, A.R., COLLINGWOOD, C.A. & SERRANO, A.R.M. 2009. One genus and three new ant species for Portugal (Hymenoptera, Formicidae). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **45**: 515-517.
- GARCÍA, F., ESPADALER, X. 2010. Nuevos casos y hospedadores de *Myrmecinosporidium durum* Hölldobler, 1933 (Fungi). *Iberomyrmex*, **2**: 3-9.
- GÓMEZ, K. & ESPADALER X. 2007. <http://www.hormigas.org/mapas> [último acesso: 21.v. 2013].
- OBREGÓN, R. & REYES-LÓPEZ, J.L. 2012. Nuevas aportaciones sobre hormigas exóticas para Portugal continental (Hymenoptera: Formicidae). *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **36**: 279-284.

SALGUEIRO, J. 2002. Catálogo dos Formicídeos de Portugal Continental e Ilhas. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **31**: 145-171.

TINAUT, A.; RUANO, F.; MARTÍNEZ, M. D. 2005. Biology, distribution and taxonomic status of the parasitic ants of the Iberian Peninsula (Hymenoptera: Formicidae, Myrmicinae). *Sociobiology*, **46**: 449-489.

## **Agradecimentos**

Agradecer ao Eng.º Carlos Carvalho pela disponibilização do olival.

Este trabalho foi financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia através do projecto PTDC/AGR - PRO/ 111123 /2009: A utilização de indicadores biológicos como ferramentas para avaliar o impacto de práticas agrícolas na sustentabilidade do olival, com a colaboração do Instituto Politécnico de Beja, Instituto Politécnico de Bragança e Universidade de Coimbra.

## 11. Comentários e sugestões

O levantamento realizado será certamente muito útil para futuros estudos na mirmecofauna associada ao olival, uma vez que a informação existente a nível da península ibérica é diminuta.

Será importante considerar a escala na qual os dados e a variável resposta são analisados. Assim, à escala do olival, existem diferenças entre a abundância e a riqueza de linhas e entrelinhas. Quando se aumenta a escala, por exemplo, dentro do Baixo Alentejo, não há diferenças na composição das comunidades entre os olivais. Se se continuar a elevar a escala – a nível regional – as diferenças voltam a surgir na composição da comunidade entre as regiões.

Para explicar a ausência de diferenças na composição das comunidades de formigas entre os diferentes sistemas de cultivo no Baixo Alentejo podem ser propostas três hipóteses:

1ª - Pode corresponder a uma verdadeira, e permanente ausência de diferenças;

2ª - Pode dever-se a um equivalente da dívida de extinção (extinction debt) (Hanski, 2013; Kuusari *et al.* 2009), o processo pelo qual as mudanças de sistema de cultivo imediatas não geram respostas igualmente imediatas no tempo mas que podem derivar, retardar-se no tempo, segundo os grupos que estão a ser analisados;

3ª - Pode, contudo haver outra explicação, puramente estatística. Em facto, nos oito olivais estudados, existem apenas duas repetições para cada sistema de cultivo. A ausência de diferenças pode dever-se a uma baixa potência para discriminar com apenas dois níveis de repetições.

Consequentemente, pensamos que seria interessante repetir exactamente o mesmo tipo de amostragem, decorridos cinco e dez anos, para testar as duas primeiras hipóteses.

É de referir as dificuldades sentidas na identificação do género *Tapinoma* (*T.nigerrimum* vs. *T.simrothi*) e *Cataglyphis* (*Cataglyphis sp* vs. *Cataglyphis iberica*). Relativamente ao género *Tapinoma*, esse facto deve-se primeiramente as características morfológicas que permitem distinguir as duas espécies, uma vez que exigem medições rigorosas da reentrância do clipeo, sendo os valores dessas medições muito próximos, por outro lado, segundo alguma



bibliografia, estas duas espécies não deveriam coexistir no mesmo microhabitat, situação que se verifica no presente trabalho. Quanto ao género *Cataglyphis* este está representado por três morfoespécies distintas mas ainda não existe certeza se se trata de uma nova espécie, pelo que serão necessárias análises genéticas para comprovar.

## 12. Conclusões e Considerações Finais

As formigas são consideradas excelentes bioindicadores, uma vez que, surgem praticamente em todos os locais, são muito abundantes e diversificadas, têm grande importância funcional nos ecossistemas, são sensíveis a alterações ambientais e a sua amostragem e identificação é bastante simples e económica.

De forma a interpretar a possível informação que se pode retirar dos formicídeos como bioindicadores é frequente a atribuição de grupos funcionais às diferentes espécies. Estes grupos funcionais são ainda agrupados em três indicadores globais de perturbação que permitem verificar se determinado ecossistema se encontra perturbado ou o seu grau de estabilidade.

Relativamente ao fungo, é de salientar, que os dois locais referidos no artigo estão em modo de produção biológica, sendo este um método agrícola que promove abundância e diversidade de fungos do solo (Hole et al., 2005; Birkhofer et al., 2008).

Aceitamos que estes dois locais (um em Portugal e outro em Espanha) não oferecem um elevado número de repetições, sendo o nosso argumento apenas uma sugestão de que as condições do solo criadas pelo modo de produção biológica podem promover a presença de formigas infectadas com *Myrmicinosporidium*.

Apenas uma análise genética vai permitir determinar se a espécies hospedeiras são infectadas pelo mesmo clone ou diferentes estirpes ou talvez mesmo as espécies crípticas do fungo.

Importante referir as duas novas espécies *Strongylognathus caeciliae* Forel, 1897 e *Temnothorax tyndalei* (Forel, 1909) citadas pela primeira vez em Portugal Continental, que fez com que a check-list de formigas em Portugal continental alcance-se as 126 espécies.

### 13. Referências bibliográficas

- Agosti, D. e Alonso, L.E. (2000). *The ALL protocol: a standard protocol for the collection of ground-dwelling ants*. In: Agosti, D., Majer, J.D., Alonso, L.E., Schultz, T.R. (Eds.), *Ants - Standard Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity*. *Smithsonian Institution Press*, Washington, DC, USA. pp. 204–206.
- Andersen, A.N. (1990). The use of ant communities to evaluate change in Australian terrestrial ecosystems: a review and a recipe. *Proceedings of the Ecological Society of Australia*. **16**: 347–357.
- Andersen, A.N. (1995). A classification of Australian ant communities based on functional groups which parallel plant life-forms in relation to stress and disturbance. *Journal of Biogeography*. **20**: 15-29.
- Andersen, A.N. (1997). Functional groups and patterns of organization in North American ant communities: a comparison with Australia. *Journal of Biogeography*. **24**: 433–460.
- Andersen, A.N. (1997a). Using ants as bioindicators: multi-scale issues in ant community ecology. *Conserv. Ecol.* (on line) 1, 8.
- Andersen, A.N. (1997b). Ants as indicators of restoration success following mining: a functional group approach. In: *Conservation Outside Nature Reserves* (P. Hale and D. Lamb, eds). Centre for Conservation Biology, University of Queensland, Queensland, Australia. pp. 319-25.
- Andersen, A.N. (2000). Global ecology of rainforest ants: functional groups in relation to environmental stress and disturbance. In: Agosti, D., Majer, J., Alonso, L., Schultz, T. (eds). *Ants: standard methods for measuring and monitoring biodiversity*. *Smithsonian Institution Press*. Washington DC. pp. 25–34.
- Andersen, A.N. e Majer, J. (2004). Ants show the way Down Under: invertebrates as bioindicators in land management. *Front. Ecol. Environ.* **2**: 291–298.
- Andrew, N., Rodgers, L. e York, A. (2000). Frequent fuel-reduction burning: the role of logs and associated leaf litter in the conservation of ant biodiversity. *Austral Ecology*. **25**: 99-107.

- Armando, M. S. (2002). *Agrodiversidade, ferramenta para uma agricultura sustentável*. Embrapa - Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documento 75. Brasília.
- Bisevac, L. e Majer, J.D. (1999). Comparative study of ant communities of rehabilitated mineral sand mines and heathland, Western Australia. *Restoration Ecology*. **7**: 117–126.
- Boieiro, M., Espadaler, X., Azedo, A.R. e Serrano, A.R.M. (2002). Four new species to the ant fauna of Portugal (Hymenoptera, Formicidae). *Boletim da Sociedade Portuguesa de Entomologia*. **20 (202)**: 253-259.
- Boieiro, M., Espadaler, X., Rita Azedo, A.R., Collingwood, C.A. & Serrano, A.R.M. (2009). One genus and three new ant species for Portugal (Hymenoptera, Formicidae). *Boletín de la Sociedad entomológica Aragonesa*. **45**: 515-517.
- Bolton, B. (1994). *Identification guide to the ant genera of the world*. Harvard University. Press, Cambridge. Mass.
- Bolton, B. (1995). *A new general catalogue of the ants of the world*. Harvard University. Press, Cambridge. Mass.
- Bolton, B. (2012). *New General Catalogue of the Ants of the World*. Acedido a: 13/03/2013 em: [http://gap.entclub.org/archive/Bolton\\_NGC\\_2012\\_JAN.pdf](http://gap.entclub.org/archive/Bolton_NGC_2012_JAN.pdf)
- Bolton, B., Alpert, G., Ward, P.S. e Naskrecki, P. (2007). *Bolton's catalogue of ants of the world*. 1758-2005. Harvard University Press, Cambridge. Mass.
- Brose, U., Martinez, N.D. e Williams R.J. (2003). Estimating species richness: sensitivity to sample coverage and insensitivity to spatial patterns. *Ecology*. **84 (9)**: 2364-2377.
- Brown Jr, K.S. (1997). Diversity, disturbance, and sustainable use of Neotropical forests: insects as indicators for conservation monitoring. *Journal Ins. Cons.* **1**: 25-42.
- Campbell, A.J. e Tanton, M.T. (1981). Effects of fire on the invertebrate fauna of soil and litter of a eucalypt forest. In: Gill, A.M., Groves, R.H., Noble, I.R. (eds.). *Fire and the Australian Biota*. Australian Academy of Sciences, Canberra, Australia. pp. 215–241.

- Cavalloro, R. e Croveti, R. (1984). Integrated pest control in olive-groves Proc. CEC/FAO/IOBC International Join Meeting. pp. 441-450.
- Collingwood, C. e Prince, A. (1998). *A guide to ants of continental Portugal*. Suplemento nº5 do Boletim da Sociedade Portuguesa de Entomologia. Lisboa.
- Disney, R.H.L. (1986). Assessments using invertebrates: posing the problem. In: *Wildlife Conservation Evaluation* (M.B. Usher, ed.) London: Chapman & Hall. pp. 271-93.
- Dunn, R., Parker, C.R. e Sanders, N.J. (2007). Temporal patterns of diversity: assessing the biotic and abiotic controls on ant assemblages. *Biological Journal of the Linnean Society*. **91**: 191-201.
- FAO (1999). Agricultural Biodiversity. Conference on the multifunctional character of agriculture and land. Background Paper 1. Maastricht, Netherlands.
- Fernández, J.E. e Moreno, F. (1999). Water use by de olive tree. In: Water Use in Crop Production. Kirkham, M.B. (ed.). Haworth Press, Binghamton, New York. pp. 101-162.
- Fisher, B.L. (1999). Improving inventory efficiency: a case study of leaf litter ant diversity in Madagascar. *Ecological Applications*. **9**: 714-731.
- Fleishman, E., Fay, J.P. e Murphy, D.D. (2000). Upsides and downsides: contrasting topographic gradients in species richness and associated scenarios for climate change. *Journal of Biogeography*. **27**: 1209-1219.
- Gabinete de Planeamento e Políticas (GPP). (2010). Acedido a: 28/05/2012 em: <http://www.gpp.pt/ambiente/Desempenho/Indicadores.html>
- Gaston, K., Gauld, I. e Hanson, P. (1996). The size and composition of the hymenopteran fauna of Costa Rica. *Journal of Biogeography*. **23**: 105-113.
- Gómez, K. e Espadaler, X. (2007). El mundo de las hormigas ibéricas. Acedido em: <http://www.hormigas.org>
- Gotelli, N.J. e Colwell R.K. (2001). Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters*. **4**: 379-391.

- Greenslade, P. J. M. (1978). The physical and biological features of Kunoth Paddock in central Australia. W. A. Low, CSIRO Division of Land Resources Management Tech Paper **4**: 109-113. Canberra.
- Greenslade, P.J.M. e Greenslade, P. (1984). Invertebrates and environmental assessment. *Environ. Plann.* **3**: 13-5.
- Haney, P.B. (1988). Identification, ecology and control of the ants in citrus: a world survey. In: Goren R., Mendel K. (eds). Proceedings of the sixth International Citrus Congress, Tel. Aviv, Israel. pp. 1227-1251.
- Hanski, I. (2013). Extinction debt at different spatial scales. *Animal Conservation*. **16**: 12-13.
- Hoffman, B.D. e Andersen, A.N. (2003). Responses of ants to disturbance in Australia, with particular reference to functional groups. *Austral Ecology*. **28**: 444-464.
- Hoffmann, B.D., Griffiths, A.D. e Andersen, A.N. (2000). Responses of ant communities to dry sulfur deposition from mining emissions in semi-arid tropical Australia, with implications for the use of functional groups. *Austral Ecology*. **25**: 653-663.
- Hook, T. V. (1997). Insect coloration and implications for conservation. *Florida Entomologist*. **80 (2)**: 193-210.
- Hortal, J., Borges, P.A.V. e Gaspar, C. (2006). Evaluating the performance of species richness estimators: sensitivity to sample grain size. *Journal of Animal*. **75**: 274-287.
- King, J.R. e Porter, S.D. (2005). Evaluation of sampling methods and species richness estimators for ants in upland ecosystems in Florida. *Environ. Entomol.* **34 (6)**: 1566-1578.
- Kremen, C. (1992). Assessing the indicator properties of species assemblages for natural areas monitoring. *Ecological Applications*. **2**: 203-217.
- Kuussaari, M., Bommarco, R., Heikkinen, R.K., Aveliina Helm, A., Krauss, J., Lindborg, R., Erik Öckinger, E., Pärtel, M., Pino, J., Rodà, F., Stefanescu, C., Teder, T., Zobel, M. e Steffan-Dewenter, I. (2009). Extinction debt: a challenge for biodiversity conservation. *Trends in Ecology and Evolution*. **24 (10)**: 564-571.

- Majer, J.D. (1983). Ants: bio-indicators of minesite rehabilitation, land-use, and land conservation. *Environmental Management*. **7**: 375-385.
- McGeoch, M. A. (1998). The selection, testing and application of terrestrial insects bioindicators. *Biological Reviews*. **73**: 181-201.
- McKenzie, D.H., Hyatt, D.E. e McDonald, V.J. (1995). *Ecological Indicators*. London: Chapman & Hall.
- Moore, W.S. e Koehler, C.S. (1980). Ants. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland. Acedido a: 25/05/2013, em: <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/PESTNOTES/pn7411.html>
- Neumann, F.G. (1992). Responses of foraging ant populations to high-intensity wildfire, salvage logging and natural regeneration processes in *Eucalyptus regnans* regrowth forest of the Victorian Central Highlands. *Australian Forestry*. **55**: 29-38.
- Noss, R.N. (1990). Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology*. **4**: 355-364.
- Paoletti, M.G. (1999). Using bioindicators based on biodiversity to assess landscape sustainability. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. **74**: 1-18.
- Paoletti, M.G. e Bressan, M. (1996). Soil invertebrates as bioindicators of Human Disturbance. *Critical Reviews in Plant Sciences*. **15**: 21-62.
- Parmesan, C., Ryrholm, N., Stefanescu, C., Hill, J.K., Thomas, C.D., Descimon, H., Brian Huntley, B., Kaila, L., Kullberg, J., Tammaru, T., Tennent, W.J., Thomas, J.A. e Warren, M. (1999). Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature*. **399**: 579-583.
- Patanita, M, Gonçalves, C., Roig, X., Pereira, J. e Santos, S. (2012). Aplicación de la nueva propuesta de grupos funcionales de hormigas para Península Ibérica y Baleares en olivares de Alentejo (Portugal). *VII Congresso Ibérico de Mirmecologia "TAXOMARA"*. Tres Cantos , Madrid, Espanha, 4 - 7 Julho 2012.

- Peck, S. L., McQuaid, B. e Campbell, C. L. (1998). Using ant species (Hymenoptera: Formicidae) as a biological indicator of agroecosystem condition. *Environ. Entomol.* **27(5)**: 1102-1110.
- Pereira, J.A., Cabanas, J.E., Bento, A. e Torres, L. (2006). Papel das formigas (Hymenoptera: Formicidae) no ecossistema olival. *Melhoramento*. Bragança. **41**: 152.
- Pik, A. J., Oliver, I. e Beattie, A. J. (1999). Taxonomic sufficiency in ecological studies of terrestrial invertebrates. *Australian Journal of Ecology*. **24**: 555-562.
- Quinn, G.P. e Keough, M.J. (2002). *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Cambridge University Press. Cambridge, England.
- Redolfi, I., Tinaut, A., Pascual, F. e Campos, M. (1999). Qualitative aspects of myrmecocenosis (Hym., Formicidae) in olive orchards with different agricultural management in Spain. *J. Appl. Ent.* **123**: 621-627.
- Redolfi, I., Tinaut, A., Pascual, F. e Campos, M. (2004). Densidad de nidos de la comunidad de hormigas (Formicidae) en tres olivares con diferente manejo agronómico en Granada, España. *Ecología Aplicada*. **3 (1,2)**: 73-81.
- Rei, F.M.C.T. (2006). *A artropodofauna associada ao olival no âmbito da protecção da cultura contra pragas*. Tese de Doutoramento. Universidade de Évora. Portugal.
- Roig, X. e Espadaler, X. (2010). Propuesta de grupos funcionales de hormigas para la Península Ibérica y Baleares, e su uso como bioindicadores. *Iberomyrmex* n.º2. Girona, Barcelona.
- Rosenberg, D.M., Danks, H.V. e Lehmkuhl, D.M. (1986). Importance of insects in environmental impact assessment. *Environ. Manage.* **10**: 773-783.
- Salgueiro, J. (2002). Catálogo dos Formicídeos de Portugal Continental e Ilhas. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. **31**:145-171.
- Salgueiro, J. (2003). Primeiros registos de formicídeos (Hymenoptera) para duas áreas protegidas portuguesas. Adição de duas novas espécies à mirmecofauna de Portugal. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. **32**:109-110.



- Santos, F.D., Forbes, K. e Moita, R. (2002). *Climate Changes in Portugal: Scenarios, Impacts and Adaptations Measures (SIAM Project)*. Grávida Publicações Lda. Lisboa.
- Santos, S.A.P., Cabanas, J.E. e Pereira, J.A. (2007). Abundance and diversity of soil arthropods in olive grove ecosystem (Portugal): Effect of pitfall trap type. *European Journal of Soil Biology*. **43**: 77-83.
- Schlick-Steiner, B.C., Steiner, F.M., Moder, K., Bruckner, A., Fiedler, K. e Christian, E. (2006). Assessing ant assemblages: pitfall trapping versus nest counting (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*. **53 (3)**: 274-281.
- Silva, A.J.R.N. (2012). *Diversidade de formigas no olival transmontano*. Relatório de Estágio da Licenciatura em Biologia. Instituto Politécnico de Beja - Escola Superior Agrária. Portugal.
- Spellerberg, I.F. (1993). *Monitoring Ecological Change*. Cambridge University Press. Cambridge, England.
- Van Straalen, N.M. (1998). Evaluation of bioindicator systems derived from soil arthropod communities. *Applied Soil Ecology*. **9**: 429-437.
- Vanderwoude, C., Andersen, A.N. e House, A.P.N. (1997). Ant communities as bio-indicators in relation to fire management of spotted gum (*Eucalyptus maculata* Hook.) forests in southeast Queensland. *Mem. Mus. Vict.* **56**: 671-675.
- Wihlm, J. L. e Dorris, T. C. (1968). Biological parameters for quality criteria. *Bioscience*. **8**: 477-481.
- Williams, K.S. (1993). Use of terrestrial arthropods to evaluate restored riparian woodlands. *Restoration Ecology*. **1**: 107-116.
- York, A. (1994). The long-term effects of fire on forest ant communities: management implications for the conservation of biodiversity. *Memoirs of the Queensland Museum*. **36**: 231-239.
- York, A. (2000). Long-term effects of frequent low-intensity burning on ant communities in coastal blackbutt forests of southeastern Australia. *Austral Ecology*. **25**: 83-98.